



**ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ
ΣΧΟΛΗ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ ΥΓΕΙΑΣ
ΤΜΗΜΑ ΚΤΗΝΙΑΤΡΙΚΗΣ**

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΩΝ ΣΠΟΥΔΩΝ
«Υδατοκαλλιέργειες» -
«Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών»

ΣΕ ΣΥΜΠΡΑΞΗ ΜΕ ΤΟ ΤΜΗΜΑ ΙΧΘΥΟΚΟΜΙΑΣ-ΑΛΙΕΙΑΣ ΤΟΥ Τ.Ε.Ι. ΗΠΕΙΡΟΥ

ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ:

**“ Μελέτη της μορφολογίας των κυττάρων του περιφερικού αίματος σε
εμπορεύσιμου μεγέθους λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). ”**

ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟΣ ΦΟΙΤΗΤΗΣ

Νέρου Χρυσάνθη-Μαρία

ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ

Χριστοδουλόπουλος Γιώργος

ΚΑΡΔΙΤΣΑ 2010



UNIVERSITY OF THESSALY
SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
FACULTY OF VETERINARY MEDICINE

POSTGRADUATE STUDIES PROGRAM

“Aquaculture” – “Aquatic Animal Health”

***IN COLLABORATION WITH
THE DEPARTMENT OF AQUACULTURE & FISHERIES, TEI OF EPIRUS***

**“Morphological study of peripheral blood cells of the Greek sea
bass, *Dicentrarchus labrax*”**

**POSTGRADUATE STUDENT
CHRISANTHI-MARIA NEROU
SUPERVISOR
GIORGOS CHRISTODOULOPOULOS**

KARDITSA 2010

Η εργασία αυτή είναι αφιερωμένη στους γονείς μου που με στηρίζουν
πάντα σε όλα με αγάπη.

Πίνακας Περιεχομένων

ΠΕΡΙΛΗΨΗ.....	4
ABSTRACT.....	7
Πρόλογος.....	10
1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....	11
1.1. ΘΑΛΛΑΣΙΑ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ	12
Ανάπτυξη και Εξέλιξη.....	12
1.2 ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ ΣΤΗΝ ΜΕΣΟΓΕΙΟ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ.....	16
1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΑ, ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΑΥΡΑΚΙΟΥ	19
1.4 ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ	20
1.5 ΤΙ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΤΙΜΕΣ ΤΟΥ	24
1.6 ΣΤΟΧΟΣ ΠΑΡΟΥΣΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ.....	26
2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ.....	28
2.1 ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ	29
Πίνακας 5: Ανάλυση νερού χωμάτινων δεξαμενών	29
2.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ	29
2.3 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΟΛΗ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ	33
3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ	34
Ερυθροκύτταρα.....	42
Λευκά αιμοσφαίρια	42
Θρομβοκύτταρα ή αιμοπετάλια	47
5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ.....	60
5.1. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΤΟ <i>DICENTRARCHUS LABRAX</i>	61
5.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ.....	63
5.3. ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΣΤΟ <i>DICENTRARCHUS LABRAX</i>	65

5.4. ΤΑ ΕΠΙΧΡΙΣΜΑΤΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΤΟΥ <i>Dicentrarchus labrax</i> ΚΑΙ Η ΧΡΩΣΗ ΠΟΥ ΕΒΑΨΕ ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ	66
6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....	68
7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....	70

ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Το ψάρι είναι οργανισμός ποικιλόθερμος και έχει την τάση να προσαρμόζει τις λειτουργίες του με βάση τις συνθήκες που επικρατούν στο άμεσο περιβάλλον (νερό). Κάθε αλλαγή στο περιβάλλον μέσα στο οποίο διαβιεί, μπορεί να επηρεάσει τις φυσιολογικές λειτουργίες του και αυτό να απεικονιστεί στο αίμα. Συνεπώς, τα κύτταρα του αίματος μας δίνουν χρήσιμες πληροφορίες για την υγεία του οργανισμού (Pavlidis et al., 2007). Παρόλο που έχει δοθεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον στο ανοσοποιητικό σύστημα του ψαριού τα τελευταία χρόνια, ωστόσο πολύ λίγες αναφορές υπάρχουν για τη δομή και τη μορφολογία των κυττάρων του αίματος. Συγκεκριμένα, διάφορα νοσήματα, που παρατηρούνται σε ψάρια των υδατοκαλλιεργειών, όπως παρασιτώσεις και βακτηριακές, μπορούν να διαγνωστούν με τη μικροσκοπική παρατήρηση απλών επιχρισμάτων αίματος (Horton and Okamura 2003). Απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η γνώση της φυσιολογικής μορφολογίας των κυττάρων του αίματος.

Σ' αυτήν την εργασία σκοπός μας είναι η μελέτη και περιγραφή των κυττάρων του περιφερικού αίματος του εκτρεφόμενου λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) εμπορεύσιμου μεγέθους, σε συνήθεις συνθήκες εκτροφής στην χώρα μας και ο προσδιορισμός κάποιων αιματολογικών παραμέτρων (αιματοκρίτης, αιμοσφαιρίνη, απόλυτος αριθμός λευκών και αιμοπεταλίων).

Στη μελέτη χρησιμοποιήθηκαν 150 συνολικά λαβράκια εμπορεύσιμου μεγέθους 190 με 467 gr τυχαίου φύλου από τα οποία πήραμε αίμα από την ουραία φλέβα μετά από αναισθητοποίησή τους με φαινοξυαιθανόλη. Από το αίμα έγιναν επιχρίσματα τα οποία βάφτηκαν με Giemsa και Diff- Quick και μετά από τυχαία επιλογή στάλθηκαν 20 δείγματα αίματος με ηπαρίνη σε ειδικό εργαστήριο προκειμένου να γίνουν οι γενικές αίματος.

Το περιφερικό αίμα του λαβρακιού που μελετήθηκε από τα βαμμένα επιχρίσματα σε οπτικό μικροσκόπιο, χαρακτηρίζεται από ώριμα και ανώριμα εμπύρηνια ερυθροκύτταρα, θρομβοκύτταρα, ουδετερόφιλα και εωσινόφιλα κοκκιοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, πλασμοκύτταρα και μονοκύτταρα-μακροφάγα, τα οποία παρουσιάζουν ομοιότητες μορφολογικά με αυτά των σπονδυλωτών.

Ο αιματοκρίτης δεν φαίνεται να επηρεάζεται από το μέγεθος και το βάρος των ψαριών και οι διακυμάνσεις που παρουσιάζει κατά πάσα πιθανότητα οφείλονται σε περιβαλλοντικά αίτια , την ηλικία και τον stress.

Τέλος ενδιαφέρον παρουσιάζει το γεγονός ότι στην μικροσκοπική παρατήρηση των επιχρισμάτων αίματος μας διευκόλυνε πολύ η χρώση Diff-Quick έναντι της Giemsa καθώς κάποια χαρακτηριστικά των κυττάρων αποδίδονται καλύτερα με την πρώτη.

ABSTRACT

Fish is poikilotherm and tends to adapt its functions under the conditions prevailing in the immediate environment (water). Any change in the environment in which they live, can affect physiological functions and is displayed to the blood. Therefore, the haematological profile of a fish population could indicate its physiological status and health and in this way haematology combined with other routine diagnostic methods could be used to identify and assess conditions that cause stress to the fish and, consequently, disease (Pavlidis et al., 2007). While there is a particular interest in the immune system of fish in recent years, however there are very few reports on the structure and morphology of blood cells. Specifically, several diseases that occur in fish aquaculture, such as parasitic infections and bacteremia, can be diagnosed by simple microscopic observation of blood smears (Horton and Okamura 2003). Knowledge of the normal morphology of blood cells it is necessary to be known.

The aim of this study is the description of peripheral blood cells of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) market size, 300-350 gr in normal breeding in our country and the identification of some blood parameters (haematocrit, hemoglobin, number of white blood cells and platelets).

Twenty healthy individuals of farmed sea bass (*Dicentrarchus labrax*) market size, 190 to 467 gr and random sex were selected for this study. We anaesthetized the fish using phenoxyethanol and we took blood from caudal vein. Smears were prepared using whole blood and stained with Diff- Quick and Giemsa solutions for light microscopy. Samples of blood was taken in an ammonium heparinized for the determination of blood parameters such as haematocrit, hemoglobin, number of white blood cells and platelets. We randomly choose twenty samples of blood in order to determine the blood parameters.

The peripheral blood of sea bass which was studied from the blood smears, characterized by mature and immature erythrocytes, thrombocytes, neutrophils, lymphocytes, plasma cells and monocytes-macrophages which show morphological similarities to those of vertebrates.

The haematocrit did not appear to be influenced by the size and weight of fish and variations in probably due to environmental factors, age and stress.

Finally, we concluded that the microscopic observation of blood smears stained by Diff-Quick was better than those stained by Giemsa and some characteristics of cells ascribe better with Diff-Quick stain.

Πρόλογος

Η παρούσα διπλωματική εργασία εκπονήθηκε στο εργαστήριο Ιχθυολογίας και Ιχθυοπαθολογίας του Τμήματος Κτηνιατρικής του Πανεπιστημίου Θεσσαλίας στα πλαίσια του μεταπτυχιακού προγράμματος «Υδατοκαλλιέργειες - Παθολογικά Προβλήματα Εκτρεφόμενων Υδρόβιων Οργανισμών».

Θα ήθελα να ευχαριστήσω τον επιβλέποντα της παρούσας εργασίας αναπληρωτή καθηγητή κ. Χριστοδουλόπουλο Γιώργο για τις συμβουλές που πρόσφερε στη διάρκεια διεξαγωγής αλλά και συγγραφής της εργασίας. Επίσης, θα ήθελα να ευχαριστήσω την καθηγήτρια κα. Αθανασοπούλου Φωτεινή, το Λέκτορα κ. Πανταζή Παναγιώτη μέλη της επιτροπής αξιολόγησης της εργασίας για τις πολύτιμες συμβουλές τους στο στήσιμο της εργασίας και τον επίκουρο καθηγητή κ Μ. Παυλίδη για τις πληροφορίες που μου παρείχε κατά την εξέλιξη του πειράματος.

Πολλές ευχαριστίες θα ήθελα να δώσω στην Μπιτχαβά Κωνσταντίνα για την ανεκτίμητη βοήθειά της από την αρχή της διεξαγωγής του πειράματος καθώς και στους κυρίους Γιώργο και Γιάννη για την υπομονή τους κατά τη διάρκεια των δειγματοληψιών. Στην Αθανασίου Λαμπρινή για τις συμβουλές και τη βοήθεια που πρόσφερε στη διάρκεια διεξαγωγής αλλά και στη συγγραφής της εργασίας που ήταν πραγματικά αναντικατάστατες και στην Τζιρώνη Μαρία για τη φιλολογική επιμέλεια του κειμένου της εργασίας.

Ένα τεράστιο ευχαριστώ στους γονείς μου για την συμπαράσταση και εμπιστοσύνη που μου δείχνουν όλα αυτά τα χρόνια. Σε κάθε βήμα, όπως και στο επόμενο είναι δίπλα μου στηρίζοντας με ουσιαστικά. Στον άντρα μου για τη βοήθειά του σε όλα μέχρι τώρα αλλά και στα επόμενα που έρχονται.

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

1.1. ΘΑΛΑΣΙΑ ΙΧΘΥΟΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Ανάπτυξη και Εξέλιξη

Στην Ελλάδα η ανάπτυξη της υδατοκαλλιέργειας ακολούθησε αυτή των υπόλοιπων χωρών της Ευρώπης, καθώς μέχρι τα τέλη της δεκαετίας του '50 στηριζόταν σχεδόν αποκλειστικά σε προσπάθειες εκτροφής ψαριών στα εσωτερικά ύδατα της χώρας, δηλαδή στα ποτάμια και στις λίμνες. Ωστόσο, οι ιδιαίτερες κλιματολογικές συνθήκες, η γεωμορφολογία, η ποικιλία των "πηγών υδροδότησης" (ποτάμια, λίμνες, θάλασσα κλπ.), η οικονομική ενίσχυση από διάφορους φορείς και η γρήγορη και επιτυχημένη, σε πολλές περιπτώσεις, εισαγωγή τεχνολογίας και τεχνογνωσίας, συνέβαλαν στην ανάπτυξη των ελληνικών υδατοκαλλιεργειών.

Στις αρχές της επόμενης δεκαετίας, η εκτροφή της πέστροφας, κυρίως, γενικεύτηκε και έγινε περισσότερο εντατική και η παραγωγή των ελληνικών υδατοκαλλιεργειών άρχισε να επεκτείνεται και να περιλαμβάνει είδη όπως ο κυπρίνος, η τιλάπια, το χέλι και ο κέφαλος. Παράλληλα, λόγω του κλίματος και της εξαιρετικά μεγάλης ακτογραμμής της Ελλάδας αναπτύχθηκε ο κλάδος της εκτροφής ευρύαλων ψαριών, που ζουν σε υψηλότερες θερμοκρασίες, όπως η τσιπούρα (*Sparus aurata*) και το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*). Η συνολική παραγωγή της χώρας από υδατοκαλλιέργειες εξελίχθηκε με γρήγορους ρυθμούς, αναδεικνύοντας τη χώρα μας στη μεγαλύτερη παραγωγό ευρύαλων ιχθύων στην Ευρώπη (Πάσχος 2004).

Το επόμενο κομβικό σημείο στην ανάπτυξη της ελληνικής ιχθυοκαλλιέργειας το συναντάμε στα μέσα της δεκαετίας του '80. Η συνολική παραγωγή ψαριών από 53 τόνους το 1985, αγγίζει το 1995 τους 17000 τόνους (πίνακας 1). Η αύξηση της παραγωγής τσιπούρας (*Sparus aurata*) και λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*), έτσι όπως σημειώνεται από τα μέσα της δεκαετίας του 1980, συνοδεύεται από μια σταθερή μείωση της παραγωγής ψαριών του γλυκού νερού (πίνακας 1). Το γεγονός αυτό μπορεί να οφείλεται πρώτα απ' όλα στη μειωμένη ζήτηση της αγοράς σε ψάρια του γλυκού νερού, εξαιτίας της προτίμησης των ελλήνων στα θαλασσινά ψάρια για τη διατροφή τους, καθώς και στις κλιματολογικές συνθήκες της χώρας μας, οι οποίες ευνοούν περισσότερο τη θαλάσσια παραγωγή. Η αλματώδης αύξηση της ιχθυοπαραγωγής γίνεται περισσότερο εμφανής στο πρώτο μισό του 1990, με την

απόλυτη κυριαρχία στην αγορά της τσιπούρας και του λαβρακιού. Χαρακτηριστικό είναι το γεγονός ότι, ενώ το 1989 η ελληνική αγορά διακινεί το 25% της συνολικής παραγωγής τσιπούρας / λαβρακιού στην Ευρώπη, το 2000 το ποσοστό αυτό φτάνει στο 55%. Το 1995 το 80% της ελληνικής παραγωγής σε αυτά τα είδη εξάγεται.

	Πέστροφα	Χέλι	Κυπρίνος	Τσιπούρα/Λαβράκι	Κέφαλος
	Παραγωγή σε τόνους				
1980	2200		12		79
1981	2250		34		60
1982	1820		90		130
1983	2150	1	140	1	200
1984	1800	4	130	3	180
1985	1780	5	160	53	115
1986	1800	7	120	89	227
1987	1900	12	254	105	380
1988	2250	16	364	200	1100
1989	2000	47	326	500	1500
1990	1900	56	200	1600	3800
1991	2415	58	159	2459	7580
1992	2050	132	235	4845	13670
1993	1885	337	240	9500	16700
1994	1943	341	253	13500	19057
1995	2455	234	211	17553	21214

Πίνακας 1. Παραγωγή ελληνικών υδατοκαλλιεργειών, 1980-1995 (Papaalias 1996; Kallifeidas 1997).

Ο αριθμός των ιχθυοκαλλιεργειών για τσιπούρα και λαβράκι αυξήθηκε από 2 σε αριθμό το 1985, σε 160 το 1995 (πίνακας 2). Παρόλο που οι ιχθυοκαλλιέργειες σχεδόν διπλασιάστηκαν σε αριθμό το πρώτο μισό του 1990, ο αριθμός αυτών που καταφέρνουν να μπουν στη βιομηχανία παραγωγής με αξιώσεις μειώνεται, συγκριτικά με αυτόν που σημειώθηκε στο δεύτερο μισό της προηγούμενης δεκαετίας. Τα μεγέθη της παραγωγής ποικίλλουν από 50 τόνους το χρόνο σε μικρά εκτροφεία έως πάνω από 200 τόνους σε άλλα. Παρ' όλα αυτά, όλα χρησιμοποιούν πάνω κάτω την ίδια τεχνολογία παραγωγής και πάχυνσης. Από την άλλη, ο αριθμός των σταθμών που χρησιμοποιούν εκκολαπτήρια, αυξάνεται με μικρότερο ρυθμό, καθώς οι

υποδομές που απαιτούνται κοστίζουν πολύ και υπάρχει ανεπάρκεια σε εξειδικευμένο προσωπικό. Έτσι, η καθετοποίηση της παραγωγής είναι ακόμα περιορισμένη, καθώς οι μικρές και μεσαίου μεγέθους επιχειρήσεις δυσκολεύονται να υποστηρίξουν τους δικούς τους ιχθυογεννητικούς σταθμούς (Karagiannis and Katranidis 2000).

Πίνακας 2. Παχυντήρια και εκκολαπτήρια τσιπούρας/λαβρακιού στη Ελλάδα, 1985-1995 (Apostolopoulos et al., 1994; Kallifeidas 1997).

	Παχυντήρια	Εκκολαπτήρια
1985	2	-
1986	9	1
1987	17	1
1988	27	1
1989	62	5
1990	86	9
1991	114	11
1992	139	16
1993	145	22
1994	164	22
1995	160	25

Από το 2000 και μετά η ελληνική ιχθυοκαλλιέργεια γνώρισε ιδιαίτερη πρόοδο η οποία στηρίχθηκε κατά κύριο λόγο στην εξέλιξη και στην ανάπτυξη των μεθόδων από Έλληνες ιχθυολόγους οι οποίοι κατάφεραν και προσαρμοσαν τις μεθόδους αυτές στην ελληνική πραγματικότητα. Η καθετοποίηση της παραγωγής τσιπούρας-λαβρακιού έχει σήμερα πλήρως επιτευχθεί και παραμένει ως προνόμιο μεγάλων ελληνικών ιχθυοκαλλιεργητικών επιχειρήσεων που κατόρθωσαν να συλλέξουν το μεγαλύτερο μερίδιο της αγοράς γόνου και έτοιμου προϊόντος στα χέρια τους (Mente et al., 2007).

Οι εντατικές καλλιέργειες θαλάσσιων ψαριών, όπως η τσιπούρα και το λαβράκι, αποτελούν έναν τομέα της ελληνικής οικονομίας, που αναπτύχθηκε σημαντικά τα τελευταία 15 χρόνια, αναδεικνύοντας τη χώρα μας ως τη μεγαλύτερη παραγωγό ευρύαλων ιχθύων στην Ευρωπαϊκή Ένωση (Ashley 2007).

Η παραγωγή ιχθύων είχε θεαματική αύξηση στην Ελλάδα και ειδικότερα η εξέλιξη της συνολικής παραγωγής τσιπούρας και λαβρακιού, η οποία, σύμφωνα με τα τελευταία δημοσιευμένα στοιχεία του FAO ως το 2007, ώθησε τη χώρα μας στην μεγαλύτερη σε παραγωγή χώρα της Μεσογείου για το 2007, αγγίζοντας τους 120.000 τόνους ιχθύων (Πίνακας 3).

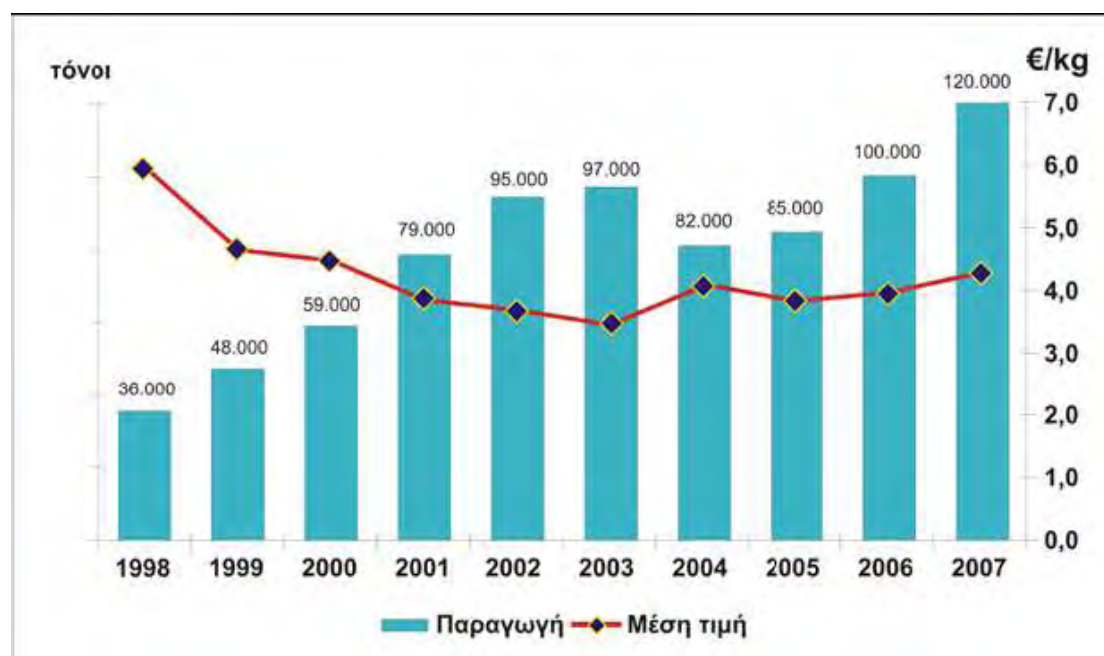
Χώρα	2003	2004	2005	2006	2007	%
Ελλάδα	97.000	82.000	85.000	100.000	120.000	48%
Τουρκία	27.000	31.000	38.600	46.000	64.000	26%
Ισπανία	17.000	17.700	21.100	29.100	33.000	13%
Ιταλία	16.700	17.500	17.100	18.000	18.300	7%
Γαλλία	4.800	5.600	6.200	7.800	6.200	2%
Πορτογαλία	4.000	4.000	4.000	3.000	3.000	1%
Κροατία	2.500	2.400	3.000	2.600	3.000	1%
Κύπρος	2.000	2.000	2.000	2.200	2.500	1%
Μάλτα	1.000	900	900	900	900	0%
Σύνολο	172.000	163.100	177.900	209.600	250.900	100%

Πίνακας 3. Παραγωγή τσιπούρας / λαβρακιού των μεσογειακών χωρών (τόνοι)

Ειδικότερα, όσον αφορά στην τσιπούρα και το λαβράκι, η Ελλάδα παράγει περίπου το 60% της συνολικής παραγόμενης ποσότητας των ειδών αυτών μεταξύ των Ευρωπαϊκών χωρών. Στην εσωτερική αγορά διατίθεται ένα ποσοστό, που αποτελεί περίπου το 25% της συνολικής παραγωγής, ενώ τα υπόλοιπα διατίθενται σε χώρες του εξωτερικού, όπως η Ιταλία, η Αγγλία, η Γερμανία, η Γαλλία και άλλες χώρες

Αυτή η παραγωγή έχει ως αποτέλεσμα, η Ελλάδα να είναι πρώτη μεταξύ των χωρών της Μεσογείου και της Ευρώπης στην παραγωγή και στην εξαγωγή θαλάσσιων ψαριών.

Ωστόσο, με την ανάπτυξη του κλάδου αυξήθηκε και ο ανταγωνισμός, με αποτέλεσμα η αύξηση της παραγωγής να οδηγήσει σε μείωση της τιμής των ιχθύων, ωθώντας πολλές παραγωγικές μονάδες σε τιμές πώλησης χαμηλότερες του κόστους παραγωγής. Στην εικόνα 1 παρατηρείται η διακύμανση της μέσης τιμής πώλησης ανά κιλό ψαριού συγκριτικά με την παραγωγική ποσότητα σε τόνους στην Ελλάδα τα τελευταία χρόνια, γεγονός που σήμερα οδήγησε πολλές εταιρίες σε σοβαρά οικονομικά προβλήματα, καθώς και τη συγχώνευση μικρών εταιριών με μεγαλύτερες.



Εικόνα 1. Εξέλιξη ελληνικής παραγωγής & τιμών τσιπούρας/λαβρακιού (πηγή: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries Statistics 2009, <http://www.fao.org>)

1.2 ΚΑΤΑΝΟΜΗ ΚΑΛΛΙΕΡΓΕΙΑΣ ΛΑΒΡΑΚΙΟΥ ΣΤΗΝ ΜΕΣΟΓΕΙΟ ΚΑΙ ΕΙΔΙΚΟΤΕΡΑ ΣΤΗΝ ΕΛΛΑΔΑ

Βαθιά μέσα στο χρόνο υπάρχουν αναφορές ότι υπήρχε καλλιέργεια λαβρακιού σε παράκτιες λίμνες και δεξαμενές νερών που γέμιζαν από τις παλίρροιες πολύ πριν την εντατική εκτροφή του είδους στα τέλη του 1960. Τότε η ιχθυοκαλλιέργεια είχε

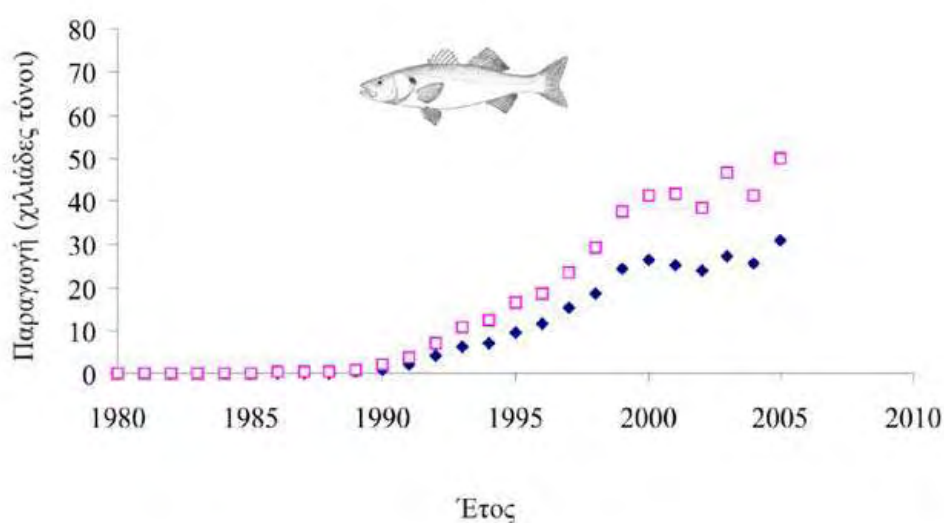
συνδυαστεί με την παραγωγή αλατιού στις παράκτιες αλυκές και ήταν κάτι το οποί έγινε κατά σύμπτωση. Έτσι, στις ίδιες λίμνες που γίνονταν το καλοκαίρι και το φθινόπωρο η συγκομιδή του αλατιού, τον χειμώνα και την άνοιξη, που γέμιζαν με νερό, καλλιεργούνταν λαβράκια.

Στα τέλη του 1960, η Γαλλία και η Ιταλία κατάφεραν ν' αναπτύξουν αξιόπιστες τεχνικές μαζικής καλλιέργειας λάρβας λαβρακιού, και μέχρι τα τέλη της επόμενης δεκαετίας οι τεχνικές αυτές είχαν εξελιχθεί τόσο, ώστε οι περισσότερες χώρες της Μεσογείου να διαθέτουν εκατοντάδες χιλιάδες λάρβες ετησίως. Το λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) αποτέλεσε το πρώτο είδος θαλασσινού ψαριού, μετά τα σολομοειδή, που αξιοποιήθηκε εμπορικά στην Ευρώπη και επί του παρόντος αποτελεί το πιο εμπορεύσιμο είδος στη Μεσόγειο με μεγαλύτερες παραγωγές χώρες την Ελλάδα, την Τουρκία, την Ιταλία, την Κροατία, και την Αίγυπτο (πηγή: Food and Agriculture Organization of the United Nations, Fisheries Statistics 2006, <http://www.fao.org>).



Ειδικότερα για τη χώρα μας, η παραγωγή τόσο της τσιπούρας όσο και του λαβρακιού, αποτελεί το 40% της συνολικής ευρωπαϊκής παραγωγής σε αυτά τα είδη. Η Ελλάδα είναι μια μικρή χώρα με εκτεταμένη ακτογραμμή, η οποία αποτελείται από ένα μεγάλο αριθμό μικρών και μεγάλων κόλπων με ποικίλα βάθη. Τα τοπογραφικά χαρακτηριστικά της χώρας μας σε συνδυασμό με τις ήπιες καιρικές συνθήκες διευκολύνουν στην αλματώδη ανάπτυξη της θαλάσσιας ιχθυοκαλλιέργειας στον ελληνικό χώρο τις τελευταίες δύο δεκαετίες. (Ioakimidis 1994;1995; Papoutsoglou 1995a;1995b; Ioakimidis 1996;1997;1998;1999).

Σύμφωνα με στοιχεία της Διεύθυνσης Υδατοκαλλιέργειας του Υπουργείου Αγροτικής Ανάπτυξης, ο αριθμός των ιχθυοκαλλιεργειών έφτασε το 1999 τις 936, από τις οποίες οι 711 αφορούσαν τη θάλασσα. Από αυτές, οι 256 έκτρεφαν λαβράκια και τσιπούρα σε ιχθυοκλωβούς στη θάλασσα, και μόνο 4 σε κλειστές χερσαίες δεξαμενές (πίνακας 4). Η κατανομή των καλλιεργειών λαβρακιού και τσιπούρας στην Ελλάδα αφορά περιοχές του Αιγαίου, του Ιονίου, της Κρήτης, του Ευβοϊκού, Κορινθιακού, Σαρωνικού και Αργολικού κόλπου.



Εικόνα 2. Παραγωγή από ιχθυοκαλλιέργεια σε χιλιάδες τόνους του λαβρακιού το χρονικό διάστημα 1980-2005 στην Ελλάδα (www.fao.org).

Τομέας παραγωγής	Αριθμός μονάδων σε λειτουργία	Παραγωγή σε τόνους
Εκκολαπτήρια	30	156500
Ιχθυοκαλλιέργειες	681	-
• Τσιπούρα/λαβράκι	256	41,5
• Οστρακοειδή	425	31
Σύνολο	711	72,5

Πίνακας 4. Παραγωγή των θαλάσσιων ιχθυοκαλλιεργειών στην Ελλάδα το έτος 1999 (Klaoudatos 1999).

1.3 ΒΙΟΛΟΓΙΑ, ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΚΑΙ ΙΔΙΑΙΤΕΡΑ ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΛΑΥΡΑΚΙΟΥ

Συστηματική κατάταξη:

Βασίλειο: Ζώα (*Animalia*)

Φύλο: Χορδωτά (*Chordata*)

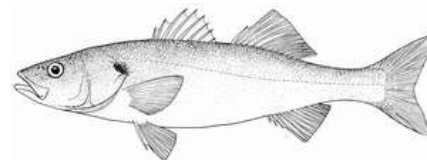
Κλάση: Ακτινοπτερύγιοι (*Actinopterygii*)

Τάξη: Περκόμορφα (*Perciformes*)

Οικογένεια: Μορονίδες (*Moronidae*)

Γένος: *Dicentrarchus*

Είδος: *Dicentrarchus labrax*



Πρόκειται για βενθοπελαγικό είδος που απαντάται στην παράκτια ζώνη, καθώς και σε εκβολές ποταμών και λιμνοθάλασσες. Στο φυσικό περιβάλλον, τα ιχθύδια μεταναστεύουν σε λιμνοθάλασσες και μικρούς κόλπους το χειμώνα, ενώ στο τέλος της άνοιξης επιστρέφουν στη θάλασσα (www.fishbase.com).

Το είδος είναι γονοχωριστικό με εξωτερική γονιμοποίηση και ισχυρό θερμοεξαρτόμενο φυλοκαθορισμό (Koumoundouros et al., 2002). Τα αρσενικά λαβράκια ωριμάζουν σεξουαλικά από το δεύτερο χρόνο της ζωής τους συνήθως, έχοντας μέγεθος 27-30 cm. Τα θηλυκά ωριμάζουν κατά τον τρίτο χρόνο της ζωής τους, με σύννηθες μέγεθος 37-40 cm. Η αναπαραγωγή τους στη Μεσόγειο ξεκινά κατά τα τέλη του Δεκέμβρη και διαρκεί μέχρι τα τέλη Μάρτη- αρχές Απρίλη. Ο λόγος είναι ότι το λαβράκι για να αναπαραχθεί και να γεννήσει χρειάζεται τις κατάλληλες συνθήκες, το σημαντικότερο ρόλο παίζει η θερμοκρασία του νερού. Ως βέλτιστη θερμοκρασία αναπαραγωγής θεωρείται από 13 μέχρι 15⁰ C. Το είδος είναι ευρύθερμο (5-28°C) και ευρύαλο, και αντέχει σε μεγάλες μεταβολές αλατότητας και θερμοκρασίας. Η όρασή του είναι πολύ δυνατή και βλέπει εξίσου καλά και στο σκοτάδι.

Το λαβράκι έχει επίμηκες σχήμα σώματος, με D9-11,XI-XII τύπο ραχιαίου και A3,X-XII τύπο εδρικού πτερυγίου, μικρά λέπια, ελαφρώς διχαλωτό ουραίο πτερύγιο και ασημί-γκρι χρώμα. Η πλευρική γραμμή είναι ευδιάκριτη και σκουρόχρωμη με 62-

80 κυκλοειδή λέπια (Moretti et al., 1999). Το μέγιστο βάρος και ολικό μήκος που έχει αναφερθεί είναι 12 Kg και 103 cm αντίστοιχα (www.fishbase.com).

Το χρώμα του είναι ασημί πλευρικά, που τείνει να γκριζάρει προς τη ράχη του και ν' ασπρίζει προς την κοιλιά του. Όταν είναι ακόμα μικρής ηλικίας, μέχρι και ενός έτους, έχει κάποια σκούρα σημάδια στη μεριά της ράχης, τα οποία όμως φεύγουν όσο μεγαλώνει. Όσον αφορά στη διατροφή του, το λαβράκι τρέφεται με μικρότερα ψάρια, καρκινοειδή και μαλάκια.

1.4 ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΑ

Παρόλο που έχει δοθεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον στο ανοσοποιητικό σύστημα του ψαριού τα τελευταία χρόνια, ωστόσο πολύ λίγες αναφορές υπάρχουν για τη δομή και τη μορφολογία των κυττάρων του αίματος (Barber et al., 1981; Bielek 1981; Savage 1983; Doggett and Harris 1989; Lopez-Ruiz et al., 1992). Όσες μελέτες έχουν γίνει σε αυτόν τον τομέα για τα ψάρια έχουν αντιμετωπίσει το ίδιο πρόβλημα, που είναι η ονοματολογία και οι τεχνικές, οι οποίες χρησιμοποιούνται για τη δειγματοληψία και την επεξεργασία των δειγμάτων αίματος. Αυτό συμβαίνει γιατί γενικά χρησιμοποιείται ως ονοματολογία στα στοιχεία του αίματος, αυτή που αναφέρεται στα ανώτερα σπονδυλωτά ζώα και η οποία βασίζεται στις μορφολογικές ομοιότητές τους και μόνο σε κάποιες περιπτώσεις χρησιμοποιούνται κάποιοι ιδιαίτεροι χαρακτηρισμοί για τα ψάρια και μόνο. Έτσι είναι γενικά δύσκολο να συγκρίνει κανείς τα αποτελέσματα από διαφορετικές εργασίες, καθώς η μεθοδολογία ποικίλλει κάθε φορά. Αυτό που συστήνεται να εφαρμόζεται στις μελέτες για το αίμα των ψαριών είναι ο συνδυασμός ποσοτικών και μορφολογικών μεθόδων (Fange 1992).

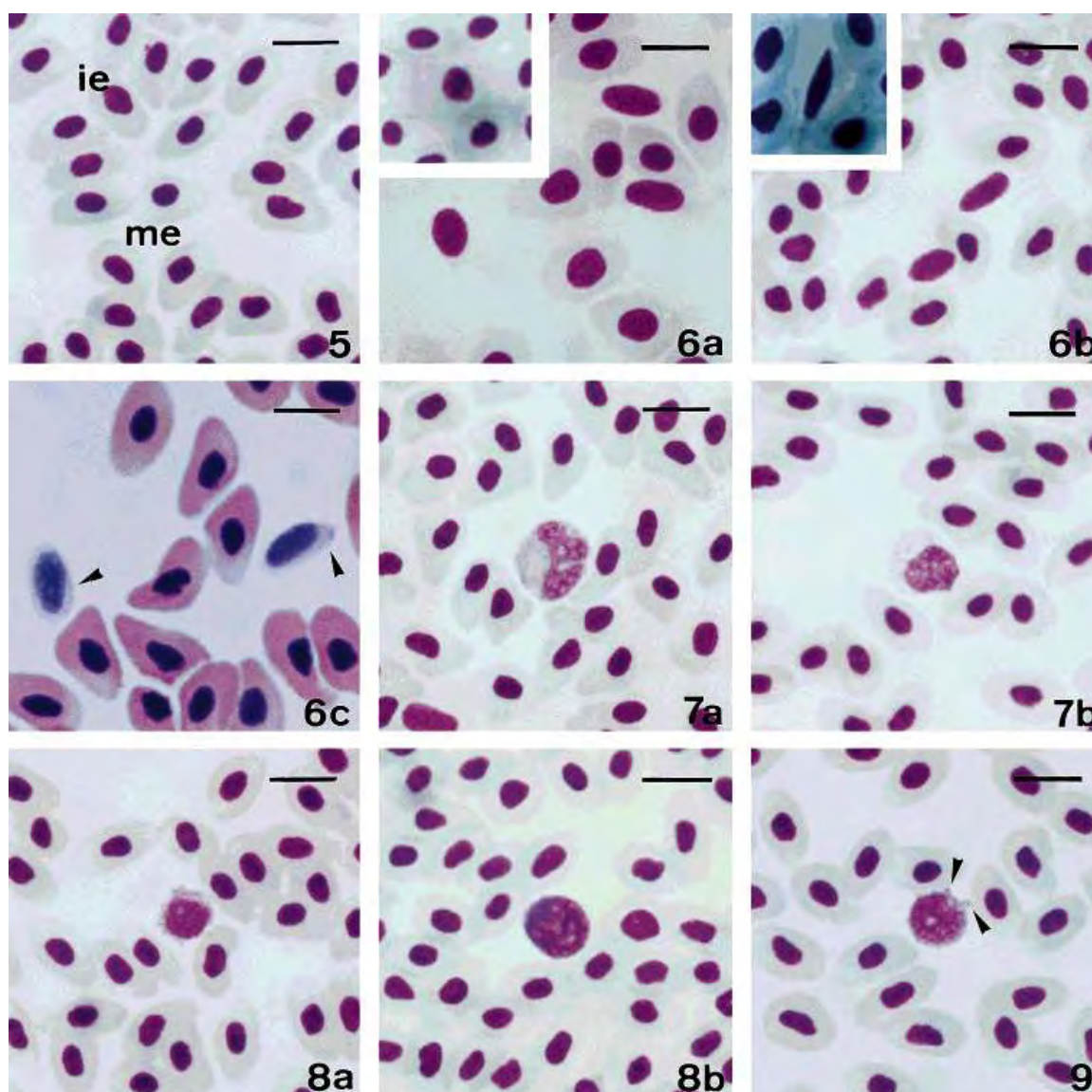
Το λαβράκι, επειδή είναι ένα από τα πιο σημαντικά είδη ψαριού που εκτρέφεται εντατικά στις σύγχρονες υδατοκαλλιέργειες, έχει χρησιμοποιηθεί ιδιαίτερα σε σύγχρονες μελέτες, οι οποίες έχουν αντικείμενο το ανοσοποιητικό σύστημα των ψαριών. Οι προσπάθειες αυτές στηρίζονται μόνο στις λειτουργικές ιδιότητες των λευκοκυττάρων του λαβρακιού, χωρίς να υπάρχουν αναφορές στη μορφολογία των συστατικών του αίματος, παρά μόνο στο γεγονός ότι έχουμε να κάνουμε με εμπύρρινα ερυθρά (Esteban and Meseguer 1994; Meseguer et al., 1994; Mulero et al., 1994; Bennani et al., 1995; Scapigliati et al., 1995; Esteban and Meseguer 1997; Romano et al., 1997).

Το 2000 έγινε μια προσπάθεια για τη μορφολογική μελέτη των στοιχείων του αίματος σε λαβράκια από τους M.Esteban, Munoz και Meseguer. Διαχώρισαν τα κύτταρα του αίματος με βάση δύο χαρακτηριστικά, το μέγεθος και τη λοβίωση του πυρήνα. Δύο κατηγορίες κυττάρων απομονώθηκαν με βάση το μέγεθος: τα μικρά, που αντιπροσωπεύουν πάνω από το μισό του πλήθους των κυττάρων (60%), και τα μεγάλα, που αντιστοιχούν στο 40%. Με βάση τη λοβίωση του πυρήνα των κυττάρων έχουμε τα κύτταρα με λιγότερη λοβίωση, που είναι και τα περισσότερα (60%) και αυτά με εντονότερη, που είναι λιγότερα (40%). Με διάφορες μεθόδους κυτταρομετρίας διαπιστώθηκε ότι τα λευκοκύτταρα στο λαβράκι (*Dicentrarchus labrax*) αποτελούνται από δύο κύριους κυτταρικούς υποπληθυσμούς. Ο πρώτος υποπληθυσμός αποτελείται από μικρά κύτταρα (3-5 μm) και περιλαμβάνει τα θρομβοκύτταρα και τα λεμφοκύτταρα, ενώ ο δεύτερος υποπληθυσμός αποτελείται από μεγαλύτερα κύτταρα (6-9 μm) και περιλαμβάνει τα κοκκιοκύτταρα και τα μονοκύτταρα- μακροφάγα (Esteban et al., 2000). Σ' επιχρίσματα αίματος λαβρακιού βαμμένα με Giemsa εντοπίζουμε με μικροσκόπηση άωρα και ώριμα ερυθροκύτταρα, θρομβοκύτταρα, ετερόφιλα και οξύφιλα κοκκιοκύτταρα, λεμφοκύτταρα, πλασμοκύτταρα και μονοκύτταρα / μακροφάγα. Τα άωρα ερυθροκύτταρα έχουν ελλειψοειδές σχήμα, με μεγάλο κεντρικό πυρήνα (εικόνα 5), ενώ τα ώριμα έχουν σκουρόχρωμο πυρήνα, με φυσαλίδες και περισσότερο σκούρο κυτταρόπλασμα (εικόνα 5). Τα θρομβοκύτταρα εντοπίζονται μεμονωμένα ή σε ομάδες και έχουν σχήμα στρογγυλό, ελλειπτικό ή σαν δοκίδες, με πυρήνα κεντρικό, και κυτταρόπλασμα, που δεν χρωματίζεται με τη Giemsa (εικόνα 6a,b,c). Τα ετερόφιλα κοκκιοκύτταρα ή ουδετερόφιλα έχουν έναν μεγάλο δίλοβο ή τρίλοβο έκκεντρο πυρήνα και κυτταρόπλασμα, που χρωματίζεται από τη Giemsa (εικόνα 7a), ενώ τα οξύφιλα ή εωσινόφιλα είναι περισσότερο στρογγυλά, με έκκεντρο δίλοβο πυρήνα και κυτταρόπλασμα, που δεν χρωματίζεται (εικόνα 7b). Τα λεμφοκύτταρα είναι μικρά, στρογγυλά κύτταρα, με μεγάλο στρογγυλό, έκκεντρο πυρήνα και σκούρο μπλε κυτταρόπλασμα (εικόνα 8a). Τα πλασμοκύτταρα έχουν ελλειπτικό σχήμα, στρογγυλό πυρήνα και κυτταρόπλασμα πολύ σκούρο μπλε (εικόνα 8b). Τέλος, τα μονοκύτταρα/ μακροφάγα είναι στρογγυλά κύτταρα με προεκβολές, μεγάλο νεφροειδές πυρήνα και μπλε κυτταρόπλασμα (εικόνα 9) (Esteban et al., 2000).

Από άποψη ποσοτικής αναλογίας, κλασσικές αιματολογικές μελέτες δείχνουν ότι τα ώριμα ερυθροκύτταρα είναι και τα περισσότερα που παρατηρούμε σ' ένα επίχρισμα αίματος από ψάρι. Βέβαια συνυπάρχουν πάντα και τα άωρα ερυθροκύτταρα. Τα θρομβοκύτταρα είναι αυτά που συναντούμε ποσοτικά μετά τα ερυθροκύτταρα, ενώ πολλές μελέτες αναφέρουν ότι αποτελούν το 70 % των λευκοκυττάρων στο αίμα. Σ' αυτό το σημείο θα πρέπει ν' αναφερθεί ότι υπάρχουν αναφορές σε διάφορα είδη ψαριών μη καταμέτρησης θρομβοκυττάρων, για παράδειγμα στο *Perca fluviatilis* (Catton 1951) κάτι το οποίο πιθανώς οφείλεται στη δυσκολία αναγνώρισης των εν λόγω κυττάρων των οποίων το σχήμα ποικίλλει. Όσον αφορά στα κοκκιώδη κύτταρα υπάρχουν μπερδεμένες πληροφορίες για το ψάρι καθώς πιστεύεται ότι οι τρεις τύποι που συναντούμε στα ανώτερα σπονδυλωτά (ουδετερόφιλα, εωσινόφιλα, βασίφιλα) περιγράφονται και στο αίμα των ψαριών (Weinreb 1963; Doggett and Harris 1989; Meseguer et al., 1990). Από αυτά τα ετερόφιλα ή ουδετερόφιλα είναι τα περισσότερα ενώ τα εωσινόφιλα ή οξύφιλα και τα βασίφιλα εντοπίζονται σπάνια ή καθόλου. Τα πλασμοκύτταρα συνήθως δεν αναγνωρίζονται εύκολα (Chiller et al., 1969; Ellis 1976; Savage 1983) και ως μονοκύτταρα / μακροφάγα περιγράφονται τα κύτταρα εκείνα του αίματος που έχουν φαγοκυτταρικές ιδιότητες (Morrow and Pulsford 1980) και τα οποία ανιχνεύονται στα επιχρίσματα αίματος (Weinreb 1963; Ferguson 1976).

Η λειτουργία της **αιμοποίησης**, λαμβάνει χώρα κατά μήκος του δικτυοενδοθηλιακού στρώματος του αγγειακού συστήματος και των οργάνων, που σχετίζονται με αυτό, δηλαδή την καρδιά, τον θύμο αδένα, το σπλήνα, το νεφρό και το ήπαρ, ή μέσα σε άλλους σωματικούς ιστούς, όπως είναι ο υποβλεννογόνιος χιτώννας του εντέρου. Σε πολλά είδη, ο μεγαλύτερος αριθμός των βλαστικών κέντρων των αιμοβλαστών, απαντάται μέσα στον πρόνεφρο και το σπλήνα. Ωστόσο, εστίες αιμοποίησης εντοπίζονται και μέσα στο ήπαρ, στο μεσόνεφρο, στο επικάρδιο της καρδιάς και στον θύμο αδένα (Groman 1982).

Η παραγωγή των κυττάρων του αίματος, η αποθήκευση και εν συνεχεία απελευθέρωση τους, καθώς και η καταστροφή των εξασθενημένων κυττάρων του αίματος και των ξένων παραγόντων, από κύτταρα της μη ειδικής ανοσολογικής απάντησης, αποτελούν λειτουργίες, οι οποίες κατά κύριο λόγο διαδραματίζονται στον σπλήνα (Spazier et al., 1992).



Εικόνα 5: Άωρα ερυθροκύτταρα (ie) και ώριμα ερυθροκύτταρα (me) σε επίχρισμα αίματος από λαβράκι χρωματισμένο με χρώση Giemsa. **Εικόνα 6:** **a)** Συστάδα από θρομβοκύτταρα και στο εικονίδιο στρογγυλά ερυθροκύτταρα με χρώση Giemsa. **b)** Ελλειψοειδή θρομβοκύτταρα και στο εικονίδιο ατρακτόμορφα με χρώση Giemsa. **c)** Ελλειψοειδή θρομβοκύτταρα με χρώση αιματοξυλίνη- εωσίνη. **Εικόνα 7:** **a)** Ουδετερόφιλα κοκκιοκύτταρα με χρώση Giemsa. **b)** Εωσινόφιλα κοκκιοκύτταρα με χρώση Giemsa. **Εικόνα 8:** **a)** Λεμφοκύτταρα με χρώση Giemsa. **b)** Πλασμοκύτταρα με χρώση Giemsa. **Εικόνα 9:** Μονοκύτταρα / μακροφάγα με προεκβολές με χρώση Giemsa (Esteban et al., 2000).

1.5 ΤΙ ΕΠΗΡΕΑΖΕΙ ΤΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ ΚΑΙ ΤΙΣ ΤΙΜΕΣ ΤΟΥ

Τόσο η συμπεριφορά, όσο και η φυσιολογικές οργανικές λειτουργίες των ψαριών επηρεάζονται καθοριστικά από την επίδραση του στρες. Το ψάρι είναι οργανισμός ποικιλόθερμος και έχει την τάση να προσαρμόζει τις λειτουργίες του με βάση τις συνθήκες που επικρατούν στο άμεσο περιβάλλον (νερό). Κάθε αλλαγή στο περιβάλλον μέσα στο οποίο διαβιεί, προκαλεί στρες και μπορεί να επηρεάσει τις φυσιολογικές λειτουργίες του και, αυτό να απεικονιστεί στο αίμα. Συνεπώς, τα κύτταρα του αίματος μας δίνουν χρήσιμες πληροφορίες για την υγεία του οργανισμού (Pavlidis et al., 2007).

Ακόμα και οι χειρισμοί που γίνονται στα ψάρια για τη δειγματοληψία αίματος, ανάδυση με απόχνη και συγκράτηση, μπορεί ν' αποφέρει σημαντικές αλλαγές στις φυσιολογικές τιμές του αίματος, όπως αύξηση του αιματοκρίτη μέχρι και κατά 25% (Railo et al., 1985; Heming 1989). Οι χειρισμοί που διαρκούν έστω και 20 sec, μπορούν να προκαλέσουν έκλυση κατεχολαμινών, οι οποίες οδηγούν σε αιμοσυγκέντρωση και επομένως, σε διόγκωση των ερυθροκυττάρων. Έτσι, αυξάνεται ο αιματοκρίτης, ενώ η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης παραμένει σταθερή και επομένως έχουμε μείωση του MCHC (Railo et al., 1985; Heming 1989). Η αύξηση κατεχολαμινών στο αίμα προκαλεί ανταλλαγή ιόντων NA^+ / H^+ και CL^- / HCO^- κατά μήκος της κυτταρικής μεμβράνης των ερυθροκυττάρων και, καθώς τα ιόντα NA^+ και CL^- εισέρχονται στο κύτταρο, παρασύρουν οσμωτικά και νερό, οπότε έχουμε διόγκωση (Railo et al., 1985).

Σε γενικές γραμμές, η τιμή του αιματοκρίτη (PCV ή HCT) είναι χαμηλότερη στα ψάρια από εκείνη των θηλαστικών και των πτηνών (Campbell 1988). Παρουσιάζει επίσης διακυμάνσεις στα είδη των ψαριών, και υπάρχουν αναφορές για διαφοροποίηση της τιμής ανάλογα με το πόσο δραστήριο είναι το ψάρι, δηλαδή αν κολυμπά γρήγορα ή όχι. Το λαβράκι είναι ένα εξαιρετικά δραστήριο ψάρι και η τιμή του αιματοκρίτη του είναι υψηλή (Rowley et al., 1988; Wilhelm Filho et al., 1992). Η ηλικία, το φύλο, η θερμοκρασία του νερού, η φωτοπερίοδος, η εποχική αλλαγή και ο αναπαραγωγικός κύκλος μπορεί να επηρεάσουν την τιμή του αιματοκρίτη (Burton and Murray 1979).

Πέρα από την τιμή του αιματοκρίτη, υπάρχουν και άλλες παράμετροι που μας δίνουν πληροφορίες για τη μορφολογία των ερυθρών αιμοσφαιρίων. Οι ειδικές αυτές εξετάσεις γίνονται πλέον ως ρουτίνα, καθώς υπολογίζονται μαζί με τον αιματοκρίτη σε αιματολογικούς αναλυτές. Οι παράμετροι ρουτίνας που αφορούν τα αιμοσφαίρια είναι οι εξής: Ο αριθμός των ερυθρών (RBC, μl^{-1}), η συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης (Hb, gr/dl), ο μέσος όγκος ερυθρών (MCV, fl), η μέση εκατοστιαία περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο (MCHC gr/dl) και η μέση περιεκτικότητα των ερυθροκυττάρων σε αιμοσφαιρίνη (MCH) .

Διάφοροι τύποι αναιμιών των ψαριών, όπως φυσικά συμβαίνει και με τους υπόλοιπους οργανισμούς, απεικονίζονται χαρακτηριστικά στα στοιχεία του αίματος, παρατηρώντας ακόμα και ένα απλό επίχρισμα αίματος. Αυτό που παρουσιάζει μεγάλο ενδιαφέρον είναι ότι τα ψάρια εμφανίζουν μια μορφή αναιμίας που οφείλεται στο περιβαλλοντικό στρες και ειδικότερα, με την μεγάλη ιχθυοπυκνότητα, στα κλουβιά εκτροφής (Burton and Murray 1979; Murray and Burton 1979). Επίσης, διάφοροι τύποι αναιμιών προκαλούνται από βακτηριαμίες, ιαμίες, τροφικές δηλητηριάσεις ή ανεπάρκειες καταστάσεις, που είναι ιδιαίτερα συχνές στις ιχθυοκαλλιέργειες.

Τα λευκοκύτταρα, και ιδιαίτερα τα κοκκιοκύτταρα, παρουσιάζουν μεγάλη ποικιλομορφία στα ψάρια. Αυτό προκαλεί μεγάλο πρόβλημα κάθε φορά που επιχειρεί κάποιος ερευνητής να ονομάσει και να κατηγοριοποιήσει τα λευκοκύτταρα των ψαριών, έχοντας ως βάση αυτά που ισχύουν στα πτηνά και στα θηλαστικά (Mary Anna Thrall et al., 2004).

Η λειτουργία των κοκκιοκυττάρων των ψαριών δεν είναι γνωστή, γι' αυτό και θεωρούμε ότι είναι ανάλογη αυτής των ανωτέρων σπονδυλωτών (Ellis 1977). Έτσι, αύξηση των ουδετερόφιλων καταδεικνύει φλεγμονώδεις νόσους, ενώ η παρουσία στρεπτικού λευκοκυτταρικού τύπου στα περισσότερα ψάρια χαρακτηρίζεται από λευκοπενία μαζί με λεμφοπενία και σχετική κοκκιοκυττάρωση (Clauss et al., 2008). Αυτές οι αιματολογικές μεταβολές, λόγω του στρες, μπορούν να επιμείνουν για αρκετές ημέρες μέχρι την απομάκρυνση του στρεσογόνου παράγοντα (Houston 1990; Wedemeyer et al., 1990). Τα λεμφοκύτταρα είναι τα πιο συχνά παρατηρούμενα από τα λευκοκύτταρα του περιφερικού αίματος των υγείων ψαριών σε αναλογία μέχρι

και 60%. Παίζουν πολύ βασικό ρόλο στην ανοσολογική ανταπόκριση των ψαριών, και μείωσή τους μπορεί να οφείλεται σε επίδραση ανοσοκατασταλτικών συνθηκών για τον οργανισμό, όπως το στρες και τα εξωγενή γλυκοκορτικοειδή (McLeay 1973).

Τα θρομβοκύτταρα έχουν να κάνουν με την αιμόσταση στο ψάρι, καθώς προκαλούν πήξη του αίματος σε καταστάσεις τραυματισμού. Είναι μικρότερα σε μέγεθος από τα ερυθροκύτταρα και μπορεί να έχουν σχήμα στρογγυλό ή ακόμα και επίμηκες. Κατά τη διαδικασία της πήξης, τα πεπτίδια που σχηματίζονται από τη διάσπαση του ινωδογόνου διαφέρουν από αυτά των θηλαστικών, όμως, η βασική δομή του ινώδους, που τελικά σχηματίζεται, είναι ίδια με αυτής των ανωτέρων σπονδυλωτών. Η συνάθροιση των θρομβοκυττάρων στα ψάρια γίνεται με διαφορετικό τρόπο από τη συνάθροιση των αιμοπεταλίων στα θηλαστικά, καθώς στα ψάρια δεν παίζει σχεδόν καθόλου ρόλο η θρομβοεξάνη στη διαδικασία, ενώ στα θηλαστικά αυτή ρυθμίζει ουσιαστικά τη συγκέντρωση των αιμοπεταλίων (Rowley et al., 1988). Η έκθεση σε γλυκοκορτικοειδή μειώνει τη συγκέντρωση των θρομβοκυττάρων στο αίμα των ψαριών και αυξάνει έτσι τον χρόνο πήξης του αίματος (Campbell 1988). Επίσης, η έλλειψη βιταμίνης Κ στη διατροφή των ψαριών μπορεί να προκαλέσει επιμήκυνση του χρόνου πήξης.

1.6 ΣΤΟΧΟΣ ΠΑΡΟΥΣΙΑΣ ΜΕΛΕΤΗΣ

Από τα παραπάνω γίνεται αντιληπτό ότι, παρόλο που έχει δοθεί ιδιαίτερο ενδιαφέρον στο ανοσοποιητικό σύστημα του ψαριού τα τελευταία χρόνια, ωστόσο πολύ λίγες αναφορές υπάρχουν για τη δομή και τη μορφολογία των κυττάρων του αίματος. Συγκεκριμένα, διάφορα νοσήματα, που παρατηρούνται σε ψάρια των υδατοκαλλιεργειών, όπως παρασιτώσεις και βακτηριαμιές, μπορούν να διαγνωστούν με τη μικροσκοπική παρατήρηση απλών επιχρισμάτων αίματος (Horton and Okamura 2003). Απαραίτητη προϋπόθεση αποτελεί η γνώση της φυσιολογικής μορφολογίας των κυττάρων του αίματος.

Σ' αυτήν την εργασία, σκοπός είναι η μελέτη και περιγραφή των κυττάρων του περιφερικού αίματος του εκτρεφόμενου λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) εμπορεύσιμου μεγέθους, του οποίου η εκτροφή έγινε σε χωμάτινες δεξαμενές με θαλασσινό νερό σε συνήθεις κλιματικές συνθήκες στην χώρα μας, και ο

προσδιορισμός κάποιων αιματολογικών παραμέτρων (αιματοκρίτης, αιμοσφαιρίνη, απόλυτος αριθμός λευκών και αιμοπεταλίων).

2.ΥΛΙΚΑ ΚΑΙ ΜΕΘΟΔΟΙ

2.1 ΕΚΤΡΟΦΗ ΤΩΝ ΨΑΡΙΩΝ

Για την εργασία χρησιμοποιήθηκαν συνολικά 150 λαβράκια ιχθυοκαλλιέργειας εμπορεύσιμου μεγέθους 190 με 467 gr τυχαίου φύλου. Η εκτροφή των λαβρακιών έγινε σε μονάδα εκτροφής τσιπούρας και λαβρακιού, που βρίσκεται στο νομό Πιερίας, στην παραλία Κατερίνης. Τα ψάρια τρέφονταν με εμπορική τροφή σε μορφή pellet. Οι ιχθυοπληθυσμοί προέρχονται από άγριους γεννήτορες και στη συνέχεια εκτρέφονται σε χωμάτινες δεξαμενές (raceways). Η θερμοκρασία νερού ήταν 24 °C. Η ανάλυση του νερού μέσα στο οποίο βρίσκονταν τα ψάρια κατά τη διάρκεια του πειράματος καταγράφονται στον πίνακα 5.

ΜΕΤΡΗΣΕΙΣ	O ₂	Αλατότητα	Αμμωνία NH ₃	Νιτρικά NO ₃	Νιτρώδη NO ₂	PH	Θερμοκρασία
Θαλασσινό Νερό	7-8 mg/lit.	35-36‰	2,5mg/l	30mg/l	0,5mg/l	8,2	24° C

Πίνακας 5: Ανάλυση νερού χωμάτινων δεξαμενών

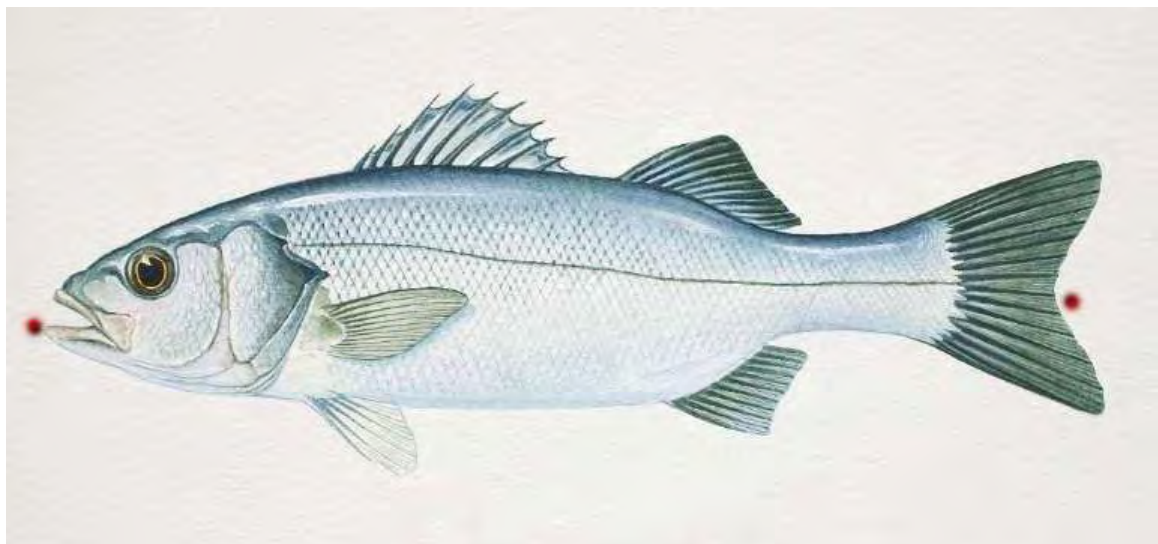
2.2 ΔΕΙΓΜΑΤΟΛΗΨΙΑ

Η δειγματοληψία πραγματοποιήθηκε τον μήνα Ιούλιο του 2009. Τα ψάρια μεταφέρθηκαν σε δεξαμενές 15 μέρες πριν την έναρξη της κάθε δειγματοληψίας ταΐστηκαν με εμπορικά pellets 2 φορές την ημέρα (Φωτογραφία 1). Το νερό στις δεξαμενές έρχεται με αντλίες από τις χωμάτινες δεξαμενές μέσα από τις οποίες βρίσκονταν πριν τη μεταφορά τους. Της έναρξης των αιμοληψιών προηγήθηκε έλεγχος των ψαριών. Ειδικότερα, λήφθηκε ένα ψάρι από κάθε μία από τις δύο πειραματικές δεξαμενές, προκειμένου να γίνουν βακτηριολογικές και παρασιτολογικές εξετάσεις, εξασφαλίζοντας ότι τα δείγματα αίματος προέρχονται από υγιή ψάρια. Η κατάσταση της υγείας τους παρακολουθούνταν καθημερινά και γινόταν έλεγχος των περιβαλλοντικών παραμέτρων.



Φωτογραφία 1: Δεξαμενές εκτροφής λαβρακιών.

Το τάισμα διακόπηκε 24 ώρες πριν την έναρξη των χειρισμών. Τα ψάρια αλιεύτηκαν με γρήγορους και προσεκτικούς χειρισμούς για την αποφυγή έντονου stress και αναισθητοποιήθηκαν με διάλυση 300mg/l 2-φαινοξυαιθανόλη (Merk, 99%, d=1,107-1,108g/dl) μέσα στο νερό (Marsic-Lucic et al., 2005; Mylonas et al., 2005; Tsantilas et al., 2006). Στη συνέχεια, πραγματοποιήθηκε μέτρηση του βάρους σε ζυγό ακριβείας και του ολικού μήκους του ψαριού. Με τον όρο ολικό μήκος εννοούμε τη μέτρηση του μήκους του ψαριού από το στόμα μέχρι την ουρά (Εικόνα 3).



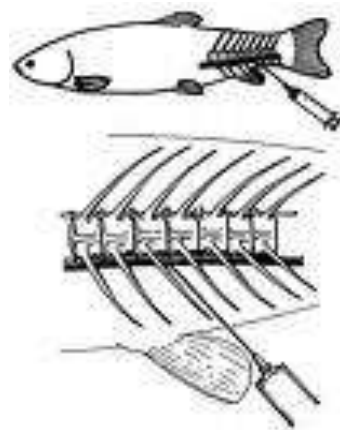
Εικόνα 3: Η αιμοληψία έγινε από την ουραία φλέβα με σύριγγα 2,5 ml και με βελόνα 21G.

(Εικόνα 4 και φωτογραφία 2). Η ποσότητα του αίματος που συλλέχθηκε ήταν 1,3ml και τοποθετήθηκε σε φιαλίδιο με ηπαρίνη. Στη συνέχεια έγινε άμεσα το επίχρισμα αίματος από κάθε ψάρι και η μονιμοποίησή του με μεθανόλη. Συγκεκριμένα μεταφέρθηκε από κάθε δείγμα αίματος μια σταγόνα πάνω στην αντικειμενοφόρο πλάκα και με τη βοήθεια μιας δεύτερης έγινε η επίστρωση του δείγματος (Εικόνα 5). Η δεύτερη πλάκα με γωνία 30° σύρθηκε με συνεχόμενη κίνηση πάνω στην πρώτη δημιουργώντας μια λεπτή στρώση αίματος κατά μήκος της πρώτης πλάκας. Τα πλακάκια στεγνώσαν για 30 sec με 1 min σε οριζόντια θέση και στη συνέχεια μονιμοποιήθηκαν με διάλυμα μεθανόλης για να στεγνώσουν πάλι τελείως σε κάθετη θέση. Για κάθε δείγμα αίματος έγιναν δύο επιχρίσματα με σκοπό να βαφτούν με διαφορετικές χρώσεις (Giemsa και Diff Quick). Η διαδικασία που ακολουθήθηκε για τα επιχρίσματα που βάφτηκαν με Giemsa ήταν η εξής: Χρησιμοποιήθηκε διάλυμα Giemsa 1/9 (Vol/Vol) το οποίο έμεινε πάνω στα πλακάκια για 20 min. Στη συνέχεια ξεπλύθηκε γρήγορα το πλακάκι με απιονισμένο νερό και το έμεινε να στεγνώσει τελείως σε κάθετη θέση (Houwen 2000; Borges et al., 2004).

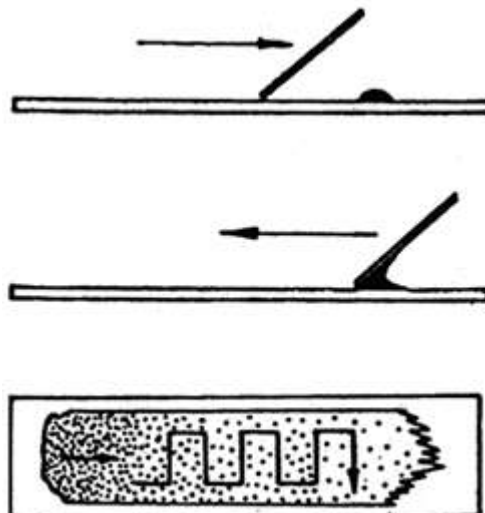


Φωτογραφία 2: Αιμοληψία από την ουραία φλέβα.

Σε αυτά που χρησιμοποιήθηκε Diff Quick έγινε η ακόλουθη διαδικασία: Τα επιχρίσματα αφού στέγνωσαν μονιμοποιήθηκαν με το μονιμοποιητικό της Diff Quick για 30 sec. Στη συνέχεια εμβαπτίστηκαν στη χρωστική II επίσης για 30 sec και τη διαδικασία επαναλήφθηκε και για τη χρώση I. Στη συνέχεια τα πλακάκια ξεπλύθηκαν με νερό βρύσης για να φύγει η επιπλέον χρώση και έμειναν να στεγνώσουν τελείως σε κάθετη θέση (Skipper and DeStephano 1989). Ακολούθησε ατομική φωτογράφησή τους με ψηφιακή φωτογραφική μηχανή (OLYMPUS B×40) προσαρτημένη σε οπτικό μικροσκόπιο (OLYMPUS UTVO5×C-3).



Εικόνα 4. Αιμοληψία από την ουραία φλέβα (Svobodova and Vykusova 1991).



Εικόνα 5. Επίχρισμα αίματος σε αντικειμενοφόρο πλάκα και τρόπος μικροσκόπησης του δείγματος με το σύστημα του Μαιάνδρου (Svobodova and Vykusova 1991).

2.3 ΕΠΕΞΕΡΓΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ΚΑΙ ΑΠΟΣΤΟΛΗ ΣΤΟ ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ

Από τα 150 δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν επιλέχθηκαν τυχαία 20 φιαλίδια τα οποία και εστάλησαν άμεσα σε ειδικό εργαστήριο στο οποίο μετρήθηκαν οι αιματολογικές παράμετροι (αιματοκρίτης, αιμοσφαιρίνη, απόλυτος αριθμός λευκών και αιμοπεταλίων) σε αναλυτή ADVIA 120.

Επιχρίσματα αίματος έγιναν και από τα 150 δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν για να γίνει η μελέτη και η φωτογράφιση των στοιχείων του αίματος του *Dicentrarchus labrax*.

3.ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Πριν από κάθε δειγματοληψία μετρήθηκε το ολικό μήκος από κάθε λαβράκι, καθώς και το βάρος του σε ζυγό ακριβείας. Οι μετρήσεις καταγράφονται στον Πίνακα 6.

Ο μέσος όρος του ολικού μήκους των ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη ήταν 29,18cm και ο μέσος όρος του βάρους 304,67gr και αντιστοιχούν στο εμπορεύσιμο μέγεθος των ψαριών που δίνονται στην κατανάλωση. Η τυπική απόκλιση του ολικού μήκους ήταν 3,56cm και του βάρους 55,9gr. Επίσης η επιλογή των ψαριών ήταν ανεξάρτητη από το φύλο τους.

Μετά την αιμοληψία το αίμα από το κάθε ψάρι τοποθετήθηκε σε φιαλίδια με αντιπηκτικό. Από το κάθε δείγμα έγιναν δύο επιχρίσματα αίματος. Από τα 150 δείγματα αίματος που συλλέχθηκαν επιλέχθηκαν τυχαία 20 φιαλίδια, που αντιστοιχούν στο 13,3% του συνολικού δείγματος, τα οποία στάλθηκαν σε ειδικό εργαστήριο, όπου έγιναν οι γενικές εξετάσεις αίματος σε ειδικό αναλυτή. Τα βάρη και τα μήκη των 20 ψαριών των οποίων τα αίματα στάλθηκαν για ανάλυση στο εργαστήριο παραθέτονται στον πίνακα 7. Τα αποτελέσματα από τις αναλύσεις παρατίθενται στον πίνακα 8.

A/A	Μήκος cm	Βάρος gr
F-Λ2-1	26,5	191
F-Λ2-2	30,5	307
F-Λ2-3	33	373
F-Λ2-4	30	271
F-Λ2-5	30	236
F-Λ2-6	27,5	249
F-Λ2-7	36	467
F-Λ2-8	29,5	282
F-Λ2-9	31	332
F-Λ2-10	28,5	243
F-Λ2-11	32	365
F-Λ2-12	35	391
F-Λ2-13	32	401
F-Λ2-14	32	322
F-Λ2-15	34	452
F-Λ2-16	30	332
F-Λ2-17	32	327
F-Λ2-18	32	309
F-Λ2-19	33	397
F-Λ2-20	34	340

Πίνακας 7: Μήκη και βάρη των 20 ψαριών των οποίων το αίμα στάλθηκε για ανάλυση στο εργαστήριο.

Ο μέσος όρος του ολικού μήκους των 20 ψαριών που επιλέχτηκαν τυχαία για να σταλούν στο εργαστήριο για ανάλυση ήταν 31,42cm και ο μέσος όρος του βάρους 329,35gr. Η τυπική απόκλιση του ολικού μήκους ήταν 2,4cm και του βάρους 72,2gr. Το βάρος και του μήκος στους δύο πληθυσμούς (150 και 20 ψάρια) μας ακολουθούν την κανονική κατανομή. Ακολουθώντας την F κατανομή θέλουμε να διαπιστώσουμε αν οι τυπικές αποκλίσεις του βάρους και του μήκους των ψαριών των δύο πληθυσμών μας είναι στατιστικώς ίσες. Από τον πίνακα βρίσκουμε πως το P value = 1,52 ενώ εφαρμόζοντας τον τύπο του t test βρίσκουμε 1,67. Επομένως συμπεραίνουμε πως η διαφορά των τυπικών αποκλίσεων του βάρους και του μήκους των ψαριών στους δύο πληθυσμούς μας δεν είναι στατιστικώς σημαντική και άρα τα 20 ψάρια μπορούν να αντιπροσωπεύσουν τον πληθυσμό των 150.

Κωδικός δείγματος	WBC×10 ³ /μl	RBC×10 ⁶ /μl	HGBg/dl	HCT%	MCVfl	MCHpg	MCHCg/dl	PLT×10 ³ /μl
F 1	49,38	4,12	12,2	41,7	101,1	29,5	29,2	55
F 2	44,02	3,79	12,9	36,4	96,1	34,1	35,5	631
F 3	76,3	4,5	12,5	40	97,2	36	31,25	589
F 4	90,5	3,6	13	35,8	96,5	58,6	36,3	458
F 5	120,5	2,9	16,5	42,3	100,6	45	39	612
F 6	141,7	2,85	17,2	27,3	95,9	60,5	63,1	604
F 7	136,4	3,71	12,7	16,6	36,5	34,2	43,7	158
F 8	58,6	4,6	12,5	23,5	95,5	56,3	53,2	259
F 9	44,4	3,69	13,2	35,9	97,4	35,9	36,8	698
F 10	94,7	3,54	16,2	32,2	91	45,9	50,4	110
F 11	68,2	3,8	16,5	41,8	100,8	45,2	39,5	356
F 12	93,3	3,25	18,6	26,7	40,7	36,4	40,9	153
F 13	93,3	4,8	10,3	32,6	95,4	36,4	31,6	452
F 14	74,6	2,65	12,5	26,7	76,5	35,7	46,8	157
F 15	115,5	4,6	20,5	20,8	90,5	42,9	98,5	549
F 16	95,6	3,5	23,6	38,5	96,7	25,9	61,3	258
F 17	46,6	4	12,6	41	97,6	47,6	30,7	365
F 18	65,4	3,96	11,5	26,8	67,7	28,9	42,7	107
F 19	76,65	4,02	22,7	43	106,7	56,4	52,8	503
F 20	65,4	3,8	16,5	41,8	100,8	45,2	39,5	356

Πίνακας 8: Γενική αίματος των ψαριών.

A/A	Μήκος cm	Βάρος gr	A/A	Μήκος cm	Βάρος gr	A/A	Μήκος cm	Βάρος gr
F-Λ2-1	26,5	191	F-Λ2-29	31	305	F-Λ2-57	27,5	243
F-Λ2-2	30,5	307	F-Λ2-30	25,5	289	F-Λ2-58	24	278
F-Λ2-3	33	373	F-Λ2-31	34	400	F-Λ2-59	29	300
F-Λ2-4	30	271	F-Λ2-32	27	358	F-Λ2-60	24	243
F-Λ2-5	30	236	F-Λ2-33	29	287	F-Λ2-61	29	308
F-Λ2-6	27,5	249	F-Λ2-34	34	451	F-Λ2-62	36	400
F-Λ2-7	36	467	F-Λ2-35	35	465	F-Λ2-63	31,5	315
F-Λ2-8	29,5	282	F-Λ2-36	28	246	F-Λ2-64	24,5	326
F-Λ2-9	31	332	F-Λ2-37	30	267	F-Λ2-65	24	198
F-Λ2-10	28,5	243	F-Λ2-38	31	280	F-Λ2-66	33	256
F-Λ2-11	32	365	F-Λ2-39	34	327	F-Λ2-67	35	350
F-Λ2-12	35	391	F-Λ2-40	32	312	F-Λ2-68	31	321
F-Λ2-13	32	401	F-Λ2-41	36	342	F-Λ2-69	27	312
F-Λ2-14	32	322	F-Λ2-42	28	287	F-Λ2-70	30	304
F-Λ2-15	34	452	F-Λ2-43	32	300	F-Λ2-71	31	312
F-Λ2-16	30	332	F-Λ2-44	24	256	F-Λ2-72	24	270
F-Λ2-17	32	327	F-Λ2-45	27	290	F-Λ2-73	25	309
F-Λ2-18	32	309	F-Λ2-46	36	358	F-Λ2-74	21	198
F-Λ2-19	33	397	F-Λ2-47	29	243	F-Λ2-75	29	294
F-Λ2-20	34	340	F-Λ2-48	35	267	F-Λ2-76	31,5	239
F-Λ2-21	27	250	F-Λ2-49	29	298	F-Λ2-77	21	211
F-Λ2-22	31	319	F-Λ2-50	30	235	F-Λ2-78	28	254
F-Λ2-23	25	236	F-Λ2-51	25	198	F-Λ2-79	28	299
F-Λ2-24	24	214	F-Λ2-52	32,5	341	F-Λ2-80	32	301
F-Λ2-25	32,5	216	F-Λ2-53	27	321	F-Λ2-81	29,5	320
F-Λ2-26	38	340	F-Λ2-54	27,5	311	F-Λ2-82	26,5	310
F-Λ2-27	23	190	F-Λ2-55	25	302	F-Λ2-83	28	299
F-Λ2-28	25	256	F-Λ2-56	29	309	F-Λ2-84	26	273

A/A	Μήκος cm	Βάρος gr	A/A	Μήκος cm	Βάρος gr	A/A	Μήκος cm	Βάρος gr
F-Λ2-85	29	300	F-Λ2-106	31	345	F-Λ2-127	27,5	403
F-Λ2-86	26,5	278	F-Λ2-107	36	354	F-Λ2-128	31	354
F-Λ2-87	31	298	F-Λ2-108	27	247	F-Λ2-129	32,5	376
F-Λ2-88	31	305	F-Λ2-109	28	287	F-Λ2-130	26	274
F-Λ2-89	28	276	F-Λ2-110	27	309	F-Λ2-131	28	269
F-Λ2-90	29	316	F-Λ2-111	24	312	F-Λ2-132	29	247
F-Λ2-91	32	354	F-Λ2-112	27	345	F-Λ2-133	24,5	230
F-Λ2-92	35	287	F-Λ2-113	34	437	F-Λ2-134	32	403
F-Λ2-93	25	199	F-Λ2-114	23	342	F-Λ2-135	28	293
F-Λ2-94	28	256	F-Λ2-115	25	259	F-Λ2-136	25,5	267
F-Λ2-95	34	309	F-Λ2-116	26,5	234	F-Λ2-137	31	309
F-Λ2-96	32	314	F-Λ2-117	26	254	F-Λ2-138	28,5	325
F-Λ2-97	33	307	F-Λ2-118	27	276	F-Λ2-139	24	365
F-Λ2-98	27	299	F-Λ2-119	27	287	F-Λ2-140	27	379
F-Λ2-99	32	352	F-Λ2-120	30,5	298	F-Λ2-141	28	357
F-Λ2-100	25	278	F-Λ2-121	34	368	F-Λ2-142	27	350
F-Λ2-101	32	304	F-Λ2-122	23	285	F-Λ2-143	23	254
F-Λ2-102	29	298	F-Λ2-123	32	290	F-Λ2-144	28	309
F-Λ2-103	31	304	F-Λ2-124	31,5	389	F-Λ2-145	26	299
F-Λ2-104	29	310	F-Λ2-125	34	400	F-Λ2-146	31	349
F-Λ2-105	32	289	F-Λ2-126	27	356	F-Λ2-147	27	289
						F-Λ2-148	24	200
						F-Λ2-149	31	346
						F-Λ2-150	28	278

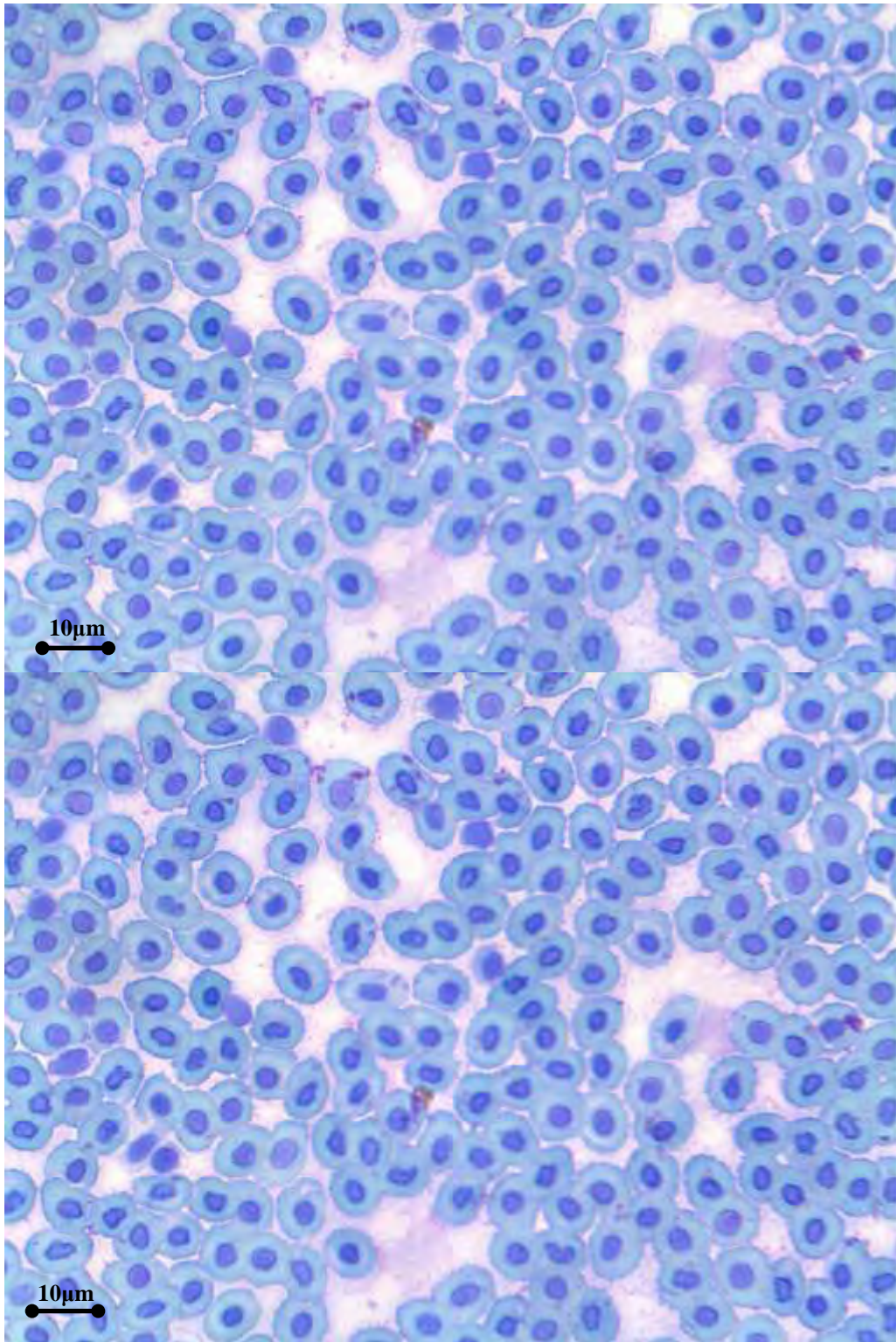
Πίνακας 6: Μήκη και βάρη των λαβρακιών

Παρατηρήθηκε ότι τα λαβράκια εμπορεύσιμου μεγέθους έχουν μέσο αιματοκρίτη 32,3 %. Έγινε, επίσης, ο λευκοκυτταρικός τύπος από το επίχρισμα αίματος από κάθε ψάρι. Τα αποτελέσματα φαίνονται στον πίνακα 9.

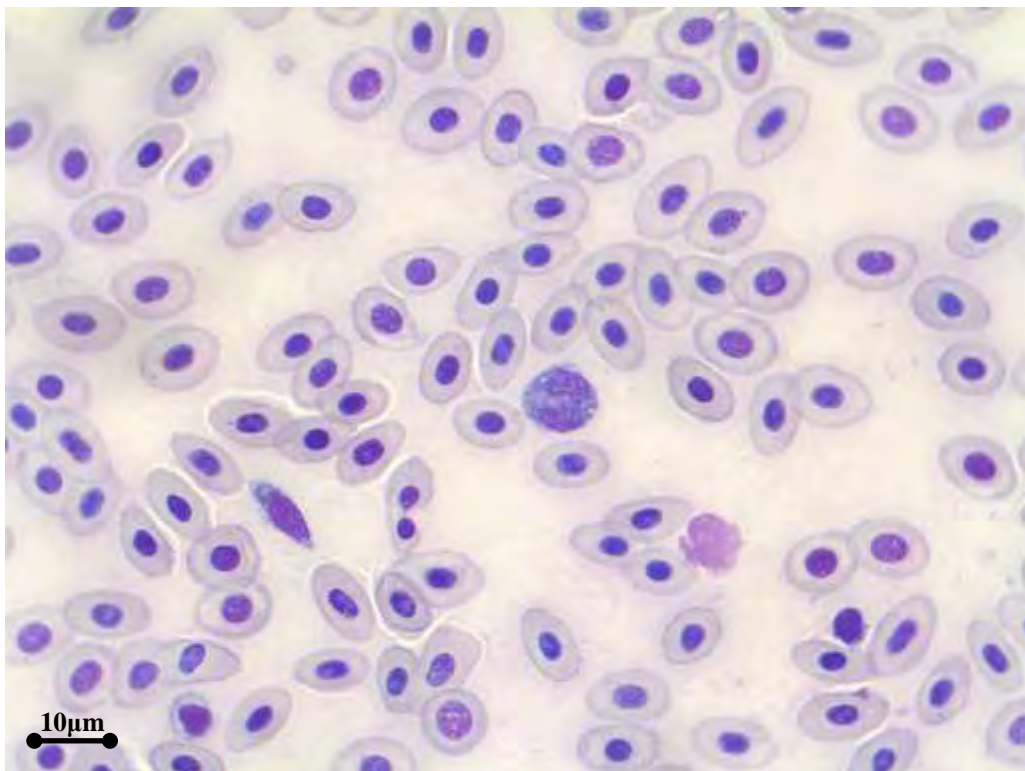
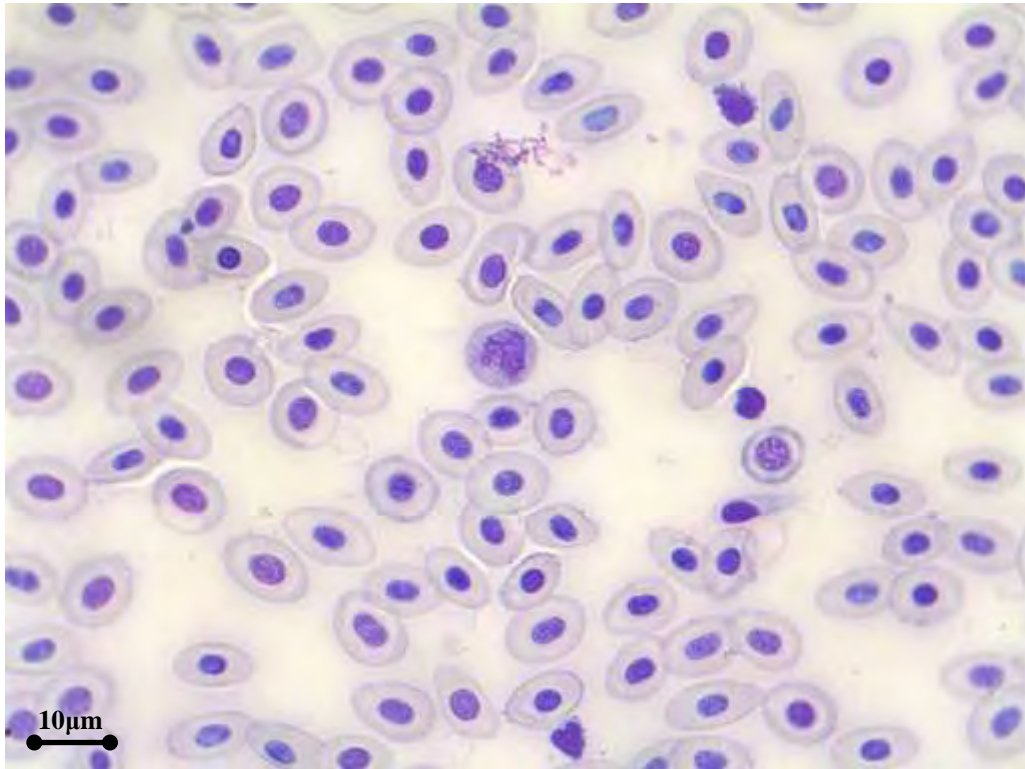
Κωδικός δείγματος	%NEUT	%LYMPH	%MONO	%EOS	%BASO
F 1	22,8	69,6	7,6	0	0
F2	32	64,6	3,4	0	0
F 3	33,3	69	2,3	0	0
F 4	28,8	72,6	1,4	0	0
F 5	34,1	68,3	2,4	0	0
F 6	25,3	72,9	1,9	0	0
F 7	24,1	71,5	4,4	0	0
F 8	30,7	80,3	1,1	0	0
F 9	25,7	65,5	8,8	0	0
F 10	12,8	85,9	1,4	0	0
F 11	35,2	68,3	3,5	0	0
F 12	18,7	79,2	2,1	0	0
F 13	20,2	81,3	1,5	0	0
F 14	34,2	68,4	2,6	0	0
F 15	26,8	75,6	2,4	0	0
F 16	66,3	36,3	2,6	0	0
F 17	21,2	83,4	4,6	0	0
F 18	24,9	65,4	9,7	0	0
F 19	27,6	61,7	10,6	0	0
F20	12,8	85,9	1,4	0	0

Πίνακας 9: Λευκοκυτταρικός τύπος ψαριών

Παρατηρείται ότι το ποσοστό των λεμφοκυττάρων είναι μεγαλύτερο από αυτό των ουδετερόφιλων, γεγονός που κάνει εντύπωση, καθώς στα άλλα είδη ζώων, αλλά και στον άνθρωπο, το ποσοστό, που υπερτερεί σε φυσιολογικές συνθήκες, είναι αυτό των ουδετερόφιλων. Το παραπάνω γεγονός επαληθεύεται και από την μικροσκοπική παρατήρηση των επιχρισμάτων αίματος. Σε τυχαία οπτικά πεδία παρατηρούνται περισσότερα λεμφοκύτταρα και πολύ λιγότερα ουδετερόφιλα. Στη συνέχεια, παρατίθενται ενδεικτικές φωτογραφίες από τα επιχρίσματα αίματος και με τις δύο χρωστικές.



Εικόνα 6: Επιχρίσματα αίματος από λαβράκια βαμμένα με Giemsa stain.



Εικόνα 7: Επιχρίσματα αίματος από λαβράκια βαμμένα με Diff- Quick stain.

Από την παρατήρηση των επιχρισμάτων και με τις δύο χρωστικές παρατηρήθηκε ότι, σε γενικές γραμμές, περισσότερο αναγνωρίσιμα και διακριτά ήταν τα στοιχεία του

αίματος στα επιχρίσματα που ήταν βαμμένα με τη χρώση Diff- Quick. Για αυτή τη διαπίστωση δεν υπάρχει κάποια αναφορά στη διεθνή βιβλιογραφία. Είναι μια παρατήρηση που έγινε κατά την μικροσκόπηση των δειγμάτων και βασίστηκε καθαρά σε ατομική κρίση. Παρακάτω απεικονίζονται φωτογραφίες επιχρισμάτων βαμμένων με Diff- Quick και πάνω σε αυτές θα γίνει η περιγραφή των στοιχείων του αίματος.

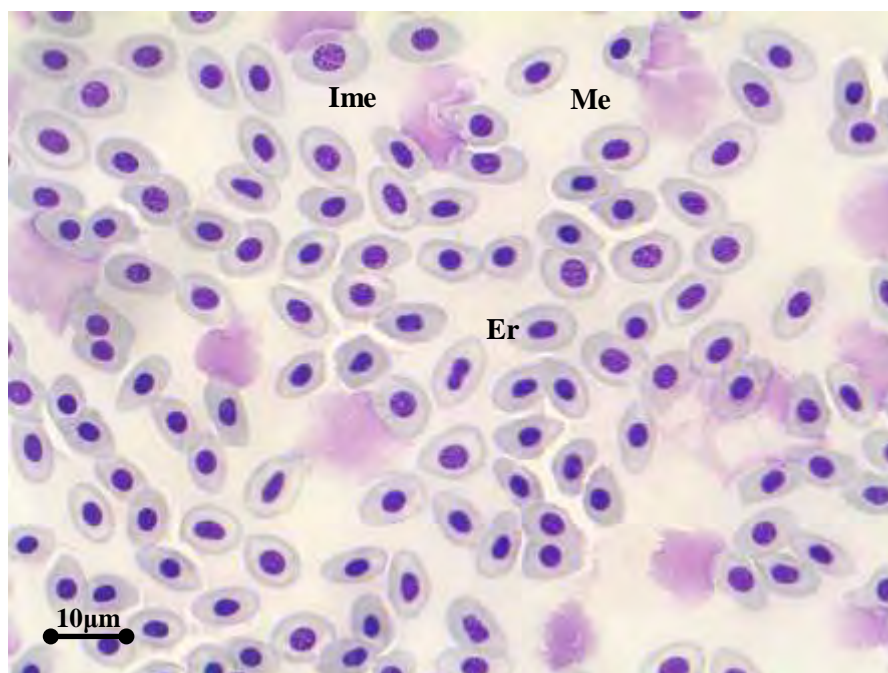
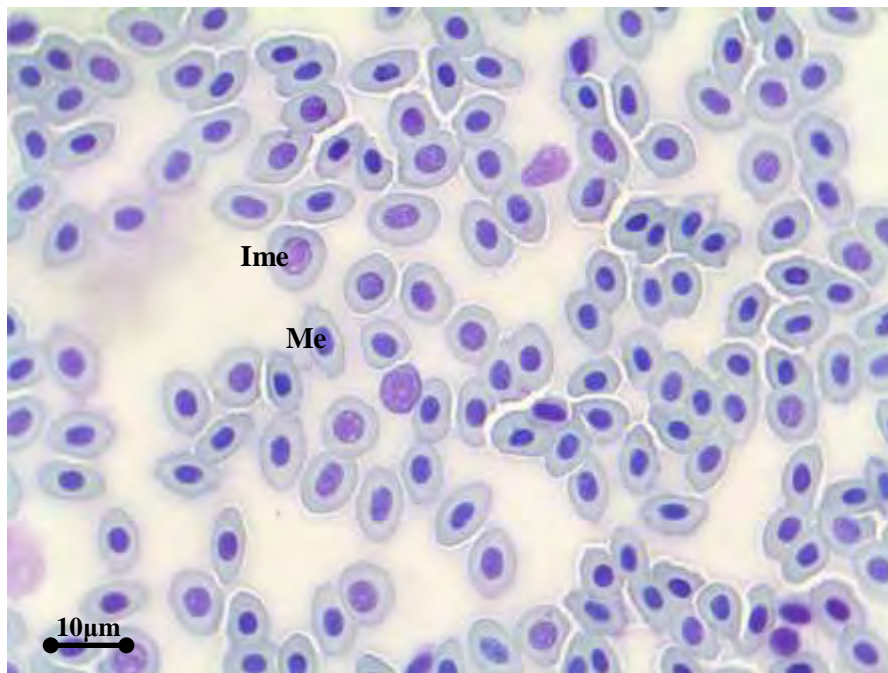
Ερυθροκύτταρα

Παρατηρήθηκαν δύο τύποι ερυθροκυττάρων. Το σχήμα των ερυθροκυττάρων που πλειοψηφεί είναι ελλειπτικό ή οβάλ με κεντρικό πυρήνα που χρωματίζεται έντονα μπλε-μοβ μέσα σε ένα ανοιχτότερο γκρι- μπλε κυτταρόπλασμα. Αυτά αποτελούν τα ώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια που σε ένα υγιή ενήλικο οργανισμό είναι και τα περισσότερα σε αναλογία. Παρατηρήθηκαν και πολύ λιγότερα ανώριμα ερυθρά αιμοσφαίρια ή αλλιώς δικτυοερυθροκύτταρα τα οποία είναι συνήθως μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα ώριμα και περισσότερο στρογγυλά σε σχήμα. Διαθέτουν έναν κεντρικό πυρήνα ο οποίος είναι περισσότερο ροζ σε χρώμα ενώ το κυτταρόπλασμα είναι μπλε-γκρι όπως και προηγουμένως (Εικόνες 8 και 9).

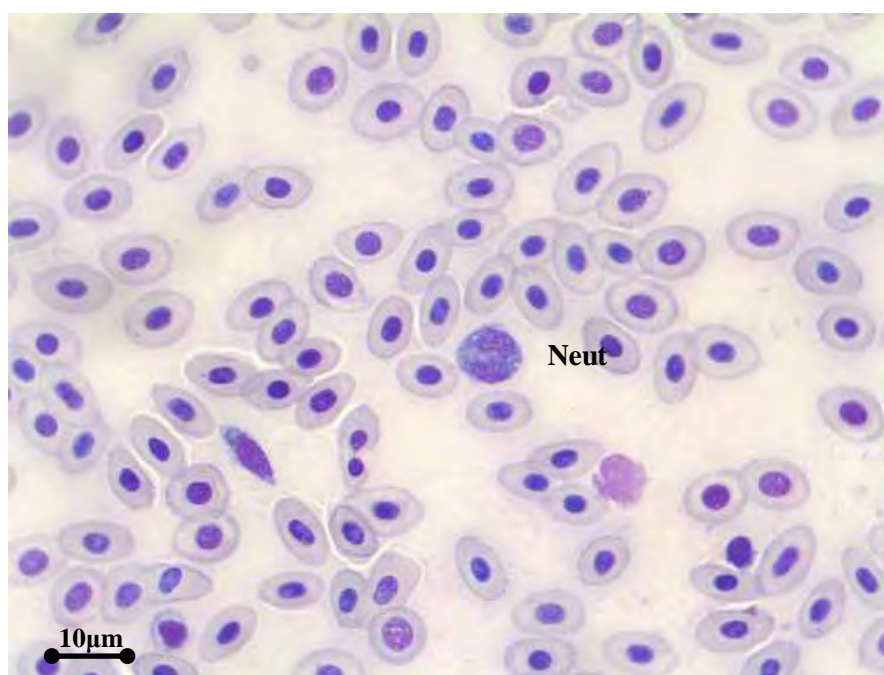
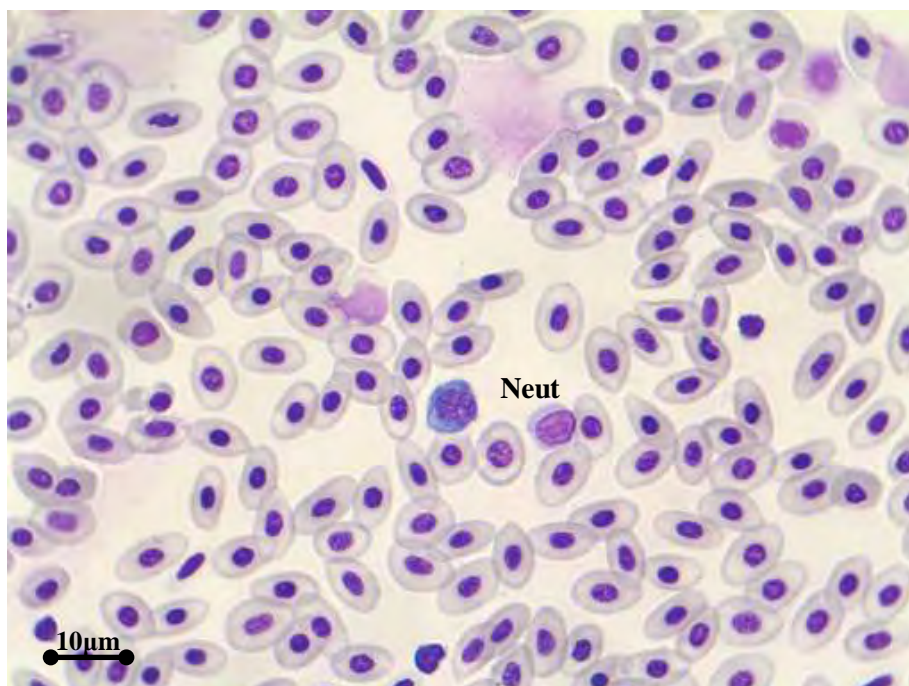
Λευκά αιμοσφαίρια

a) Κοκκιοκύτταρα

Στα επιχρίσματα αίματος εντοπίστηκαν, κατά κύριο λόγο, ουδετερόφιλα. Τα ουδετερόφιλα ήταν σε ποικίλα μεγέθη και σχήματα, αλλά πάντα μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα ερυθρά αιμοσφαίρια (Εικόνες 10 και 11). Ο πυρήνας παρατηρήθηκε ότι χρωματίζεται μωβ, παρουσιάζει λοβίωση, και το κυτταρόπλασμα έχει έντονο μπλε χρώμα.



Εικόνα 8 και 9: Επιχρίσματα αίματος από λαβράκια βαμμένα με Diff- Quick stain. (Ime) είναι τα ανώριμα ερυθροκύτταρα, (Me) τα ώριμα και (Er) ερυθροκύτταρο με πυρηνοδιαίρεση.

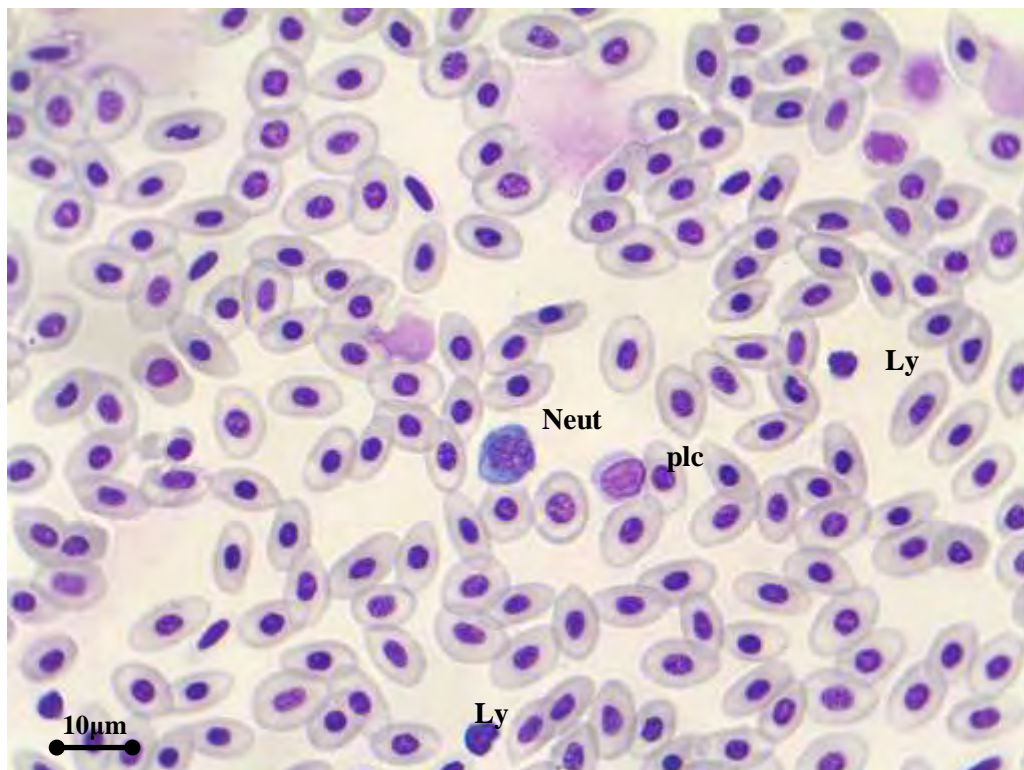


Εικόνες 10 και 11: Ουδετερόφιλα (Neut) σε επίχρισμα αίματος από λαβράκι.

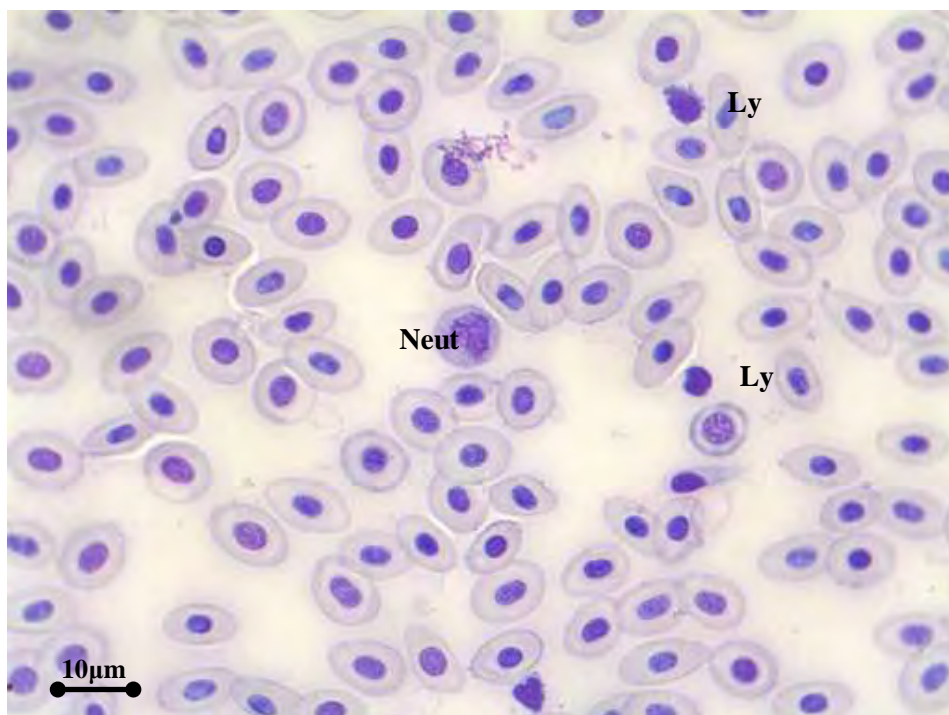
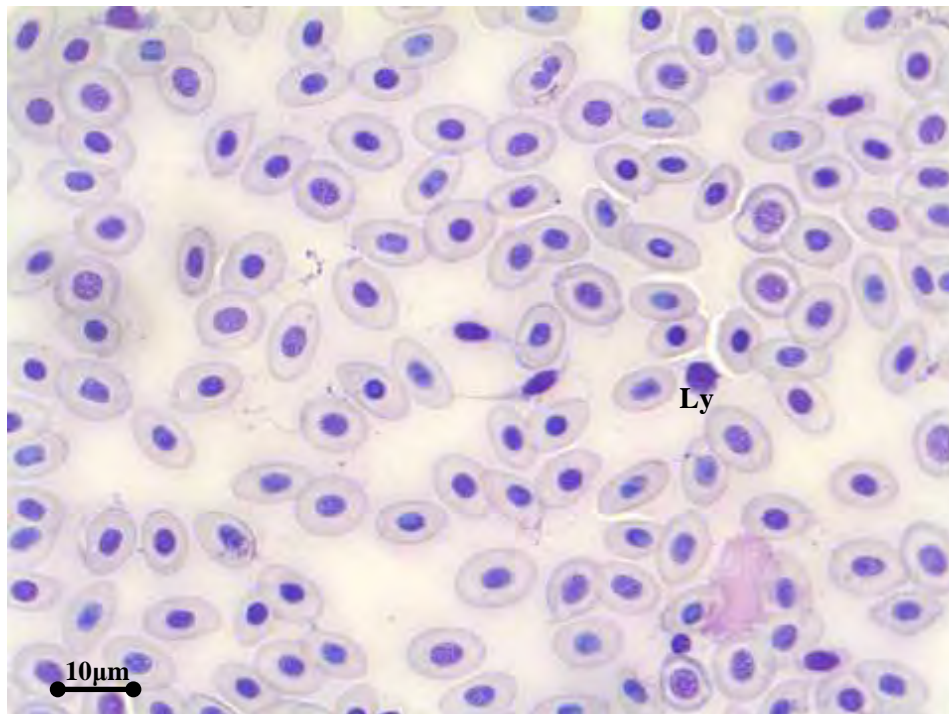
α) Λεμφοκύτταρα

Τα λεμφοκύτταρα που βρέθηκαν είναι σφαιρικά σε σχήμα και σε μέγεθος κυρίως μικρότερα του ερυθροκυττάρου. Ο πυρήνας χρωματίζεται σκούρο μοβ και το κυτταρόπλασμα που συνήθως υπερκαλύπτεται από τον πυρήνα έχει σκούρο μπλε χρώμα. Η κυτταρική μεμβράνη του κυτταροπλάσματος συχνά παρατηρείται ότι

διαθέτει ψευδοπόδια ή αποφύσεις. Η αναλογία πυρήνα–κυτταροπλάσματος στα λεμφοκύτταρα είναι μεγαλύτερη από ότι αυτή των κοκκιοκυττάρων (Εικόνες 13 και 14). Στα επιχρίσματα βράθηκαν και μεγαλύτερου μεγέθους λεμφοκύτταρα σε σχήμα οβάλ και στρογγυλό μοβ πυρήνα και κυτταρόπλασμα σκούρο μπλε. Αυτά τα λεμφοκύτταρα ονομάζονται πλασμοκύτταρα (plasma cells) και είναι πολύ σπάνια στα επιχρίσματα υγιών ψαριών (Εικόνα 12).



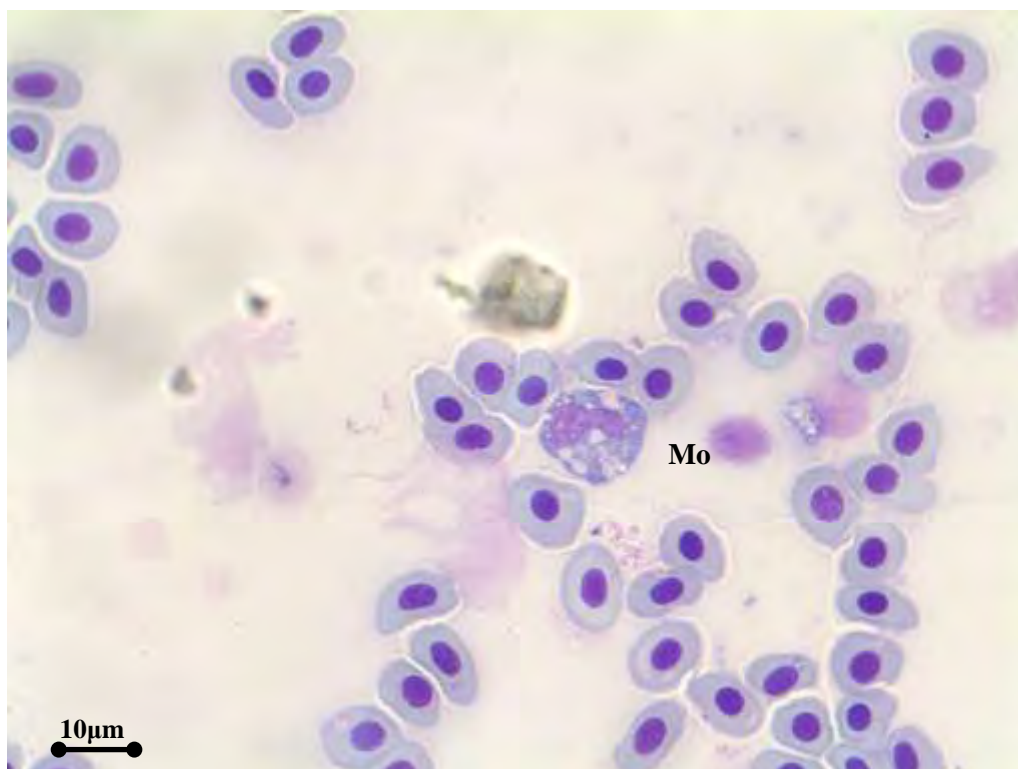
Εικόνα 12: Πλασμοκύτταρο (plc), λεμφοκύτταρα (Ly) και ουδετερόφιλο (Neut) σε επίχρισμα αίματος.



Εικόνες 13 και 14: Λεμφοκύτταρα (Ly) και ουδετερόφιλο (Neut) σε επίχρισμα αίματος

b) Μονοκύτταρα

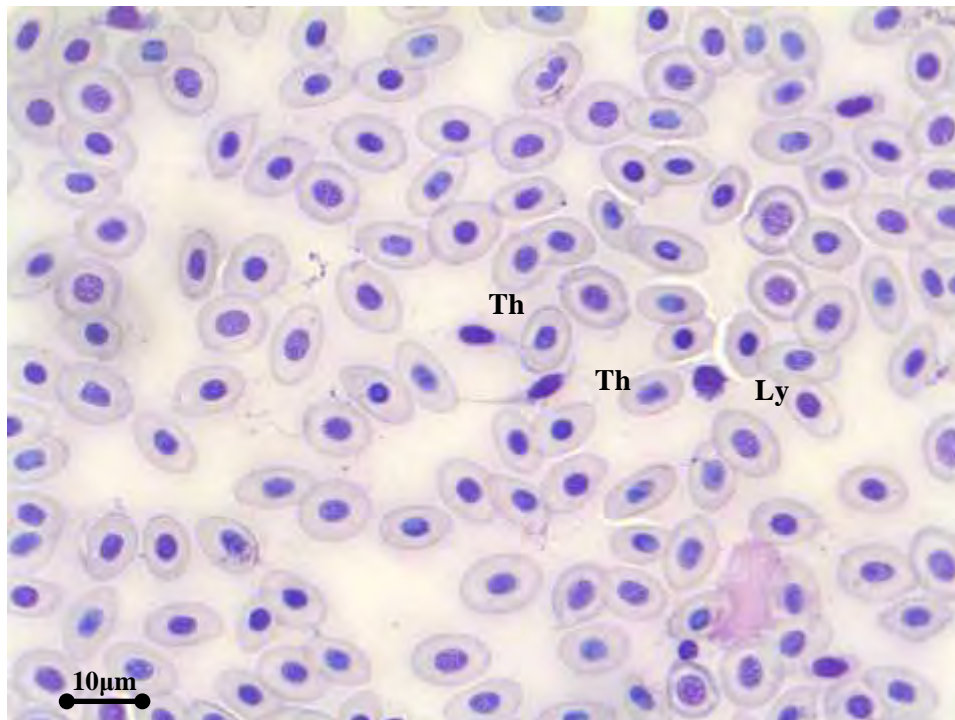
Σε αυτήν την κατηγορία κυττάρων ο έκκεντρος πυρήνας παρατηρήσαμε ότι βάφεται σκούρο μοβ και έχει σχήμα νεφροειδές ενώ το κυτταρόπλασμα είναι ανοιχτό γαλάζιο συνήθως με κενोटόπια και με κυτταρική μεμβράνη που εκτείνει ψευδοπόδια. Η αναλογία πυρήνα/κυτταροπλάσματος είναι ανάμεσα σε αυτήν των λεμφοκυττάρων και κοκκιοκυττάρων. Το μέγεθός τους είναι όμοιο ή λίγο μεγαλύτερο από αυτό των ουδετερόφιλων και σίγουρα μεγαλύτερο των ερυθρών (Εικόνα 15).



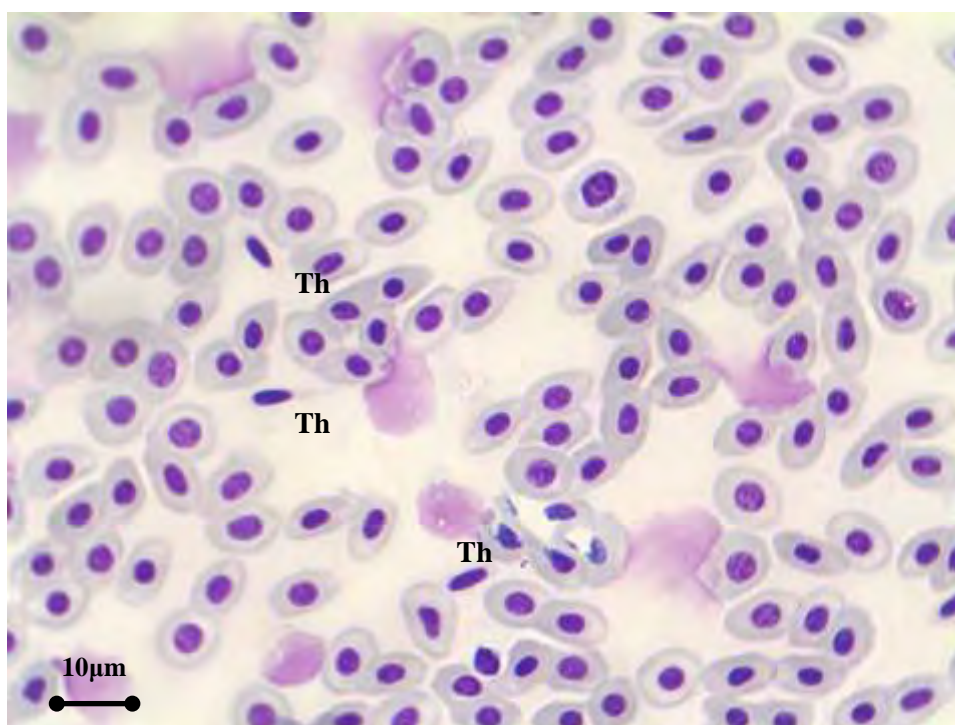
Εικόνα 15: Μονοκύτταρο (Mo) σε επίχρισμα αίματος λαβρακιού.

Θρομβοκύτταρα ή αιμοπετάλια

Τα θρομβοκύτταρα που παρατηρήθηκαν στο λαβράκι είχαν, κατά κύριο λόγο, σχήμα ατρακτοειδές, με πυρήνα που ακολουθεί το σχήμα του κυττάρου. Συνήθως απαντώνται ως μεμονωμένα κύτταρα και σπάνια σε ομάδες. Ο πυρήνας βάφεται σκούρος μπλε και είναι κεντρικός και μεγάλος, ενώ το κυτταρόπλασμα έχει χρώμα πολύ ανοιχτό γκρι-μπλε και περιβάλλει τον πυρήνα. Έχουν μέγεθος που ποικίλλει και αυτό, που τα κάνει εύκολα αναγνωρίσιμα, είναι το σχήμα τους (Εικόνες 16 και 17).

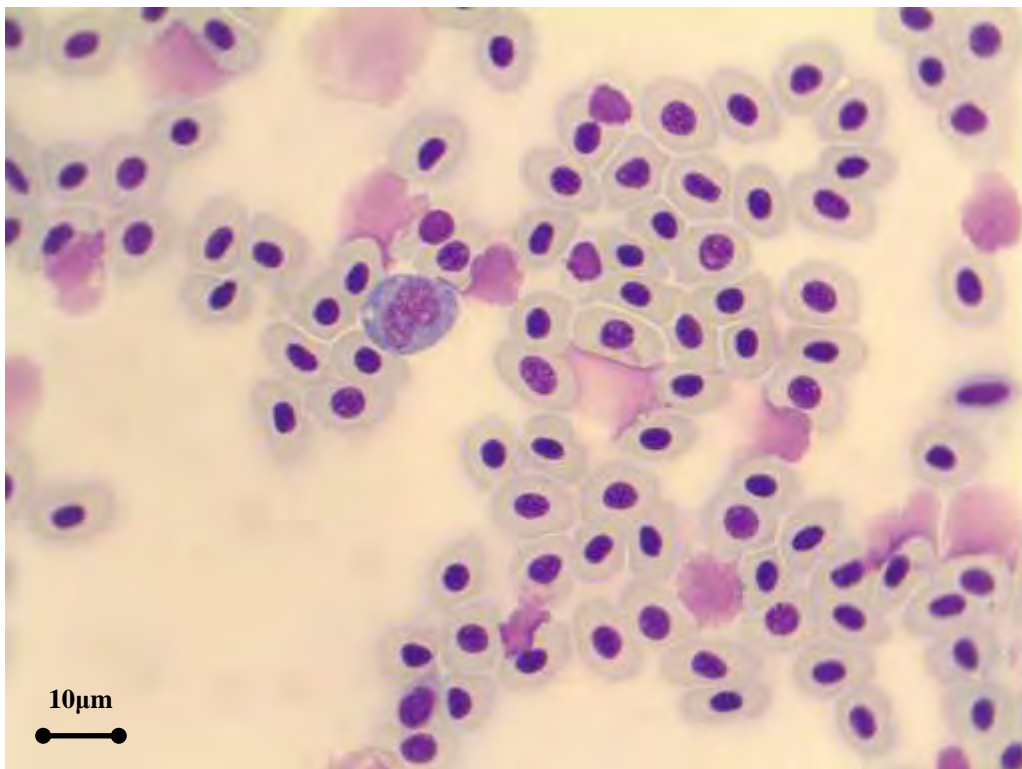
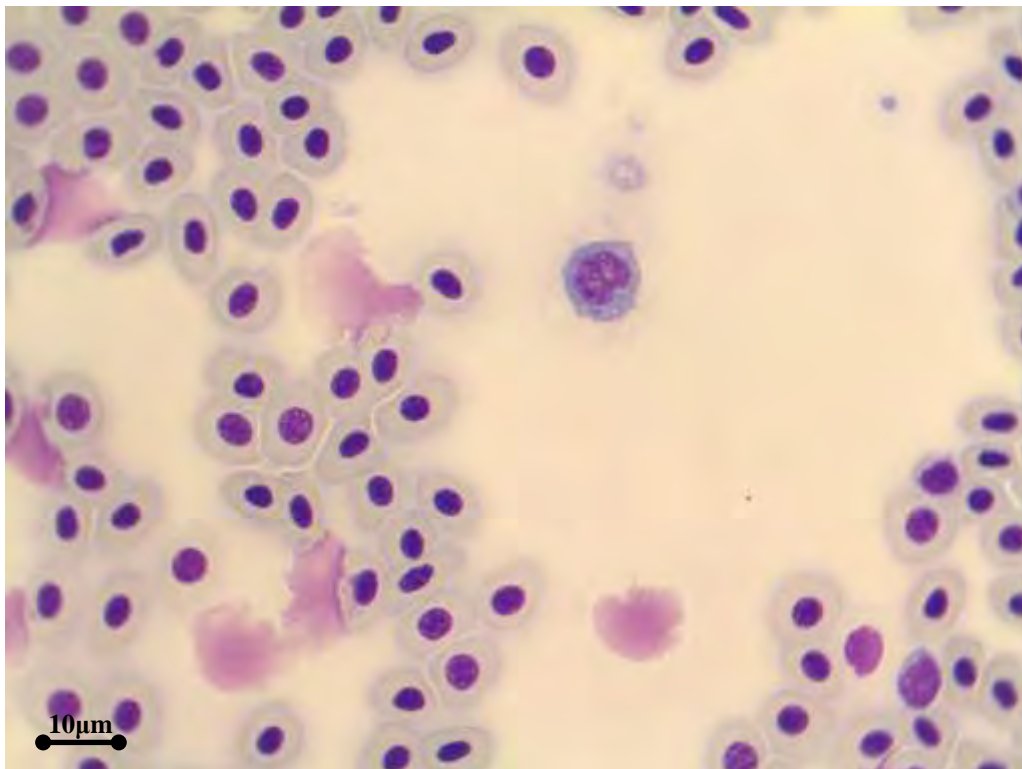


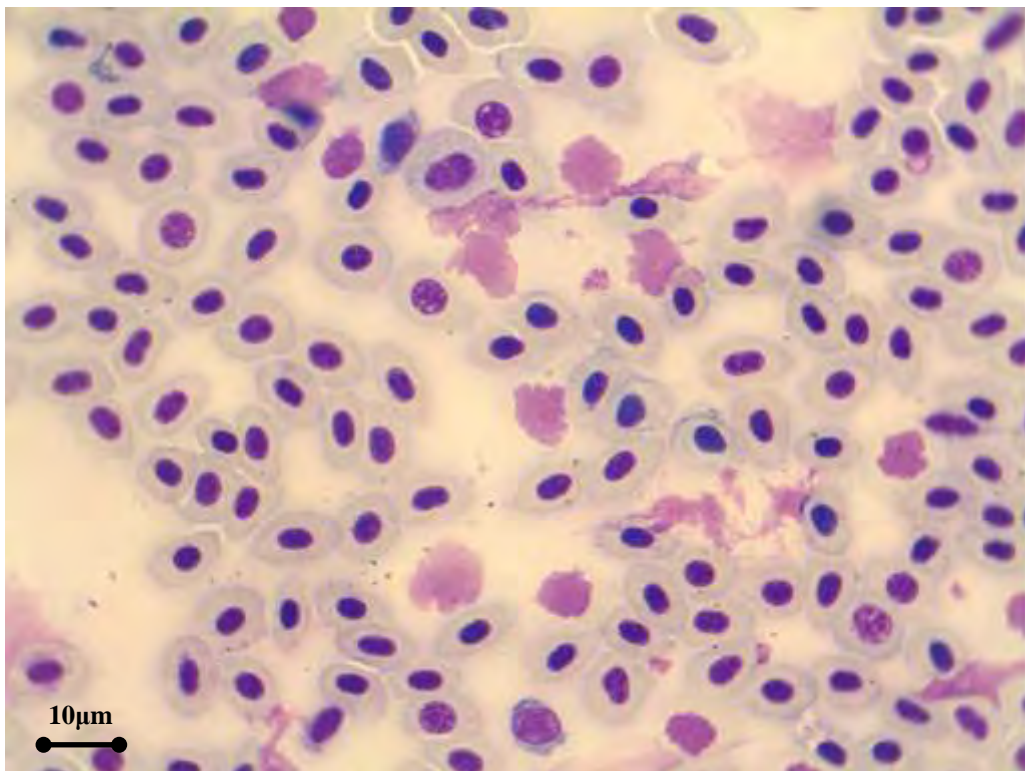
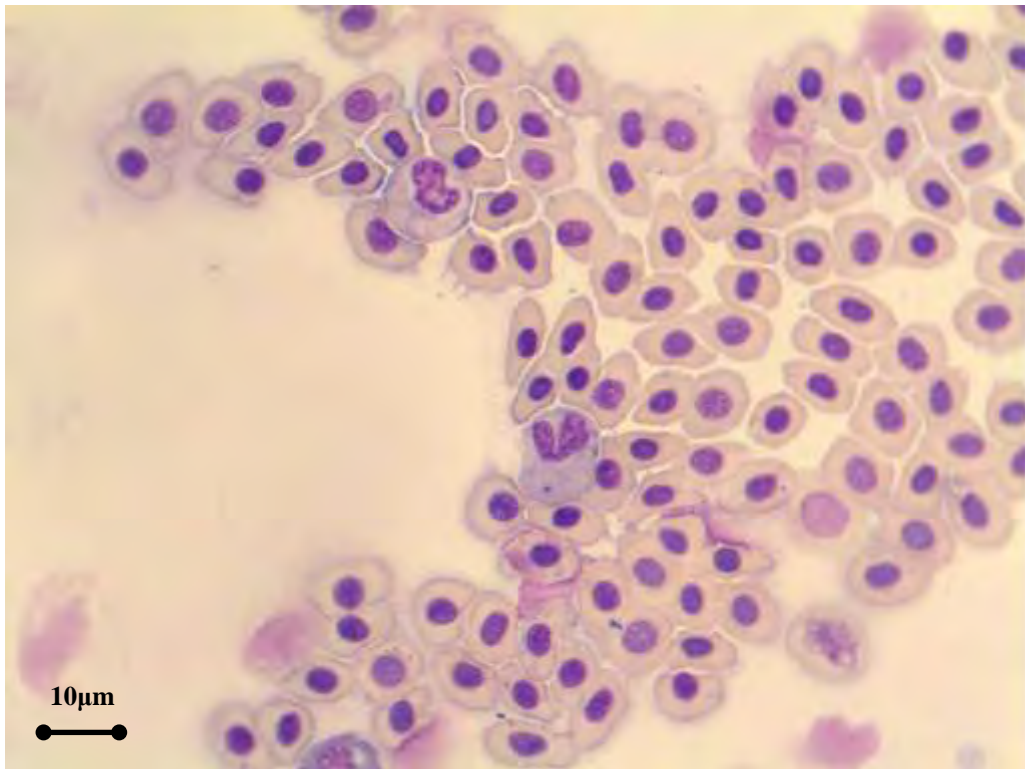
Εικόνα 16: Θρομβοκύτταρα (Th) και λεμφοκύτταρο (Ly) σε επιχρίσματα αίματος λαβρακιού.

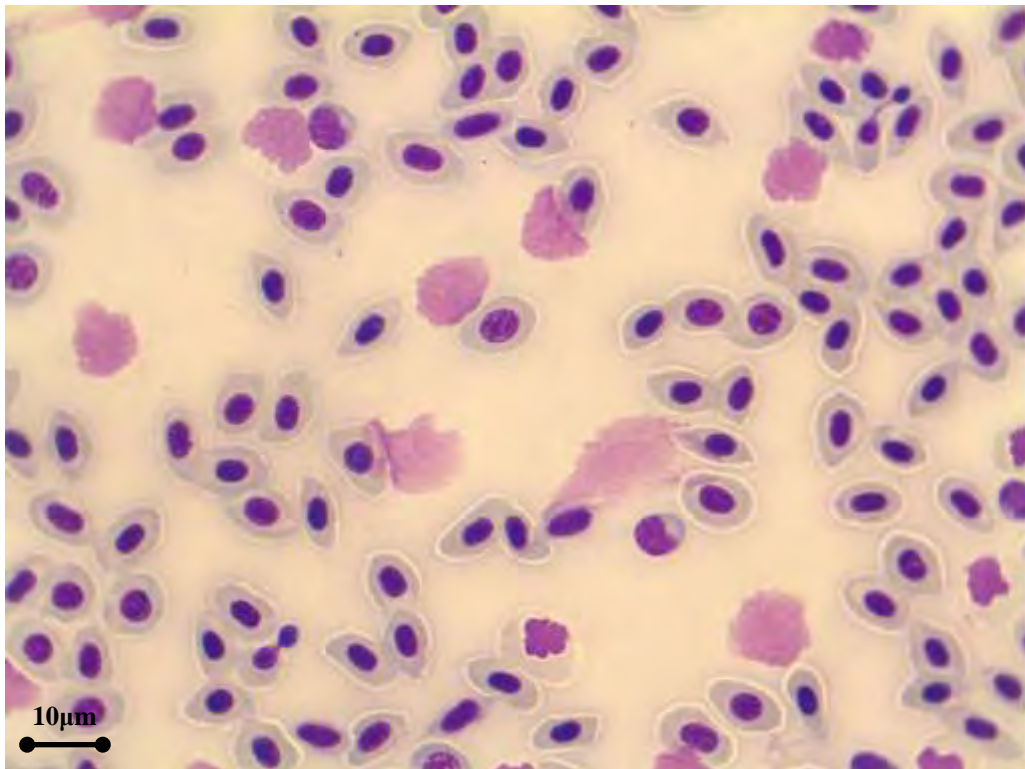
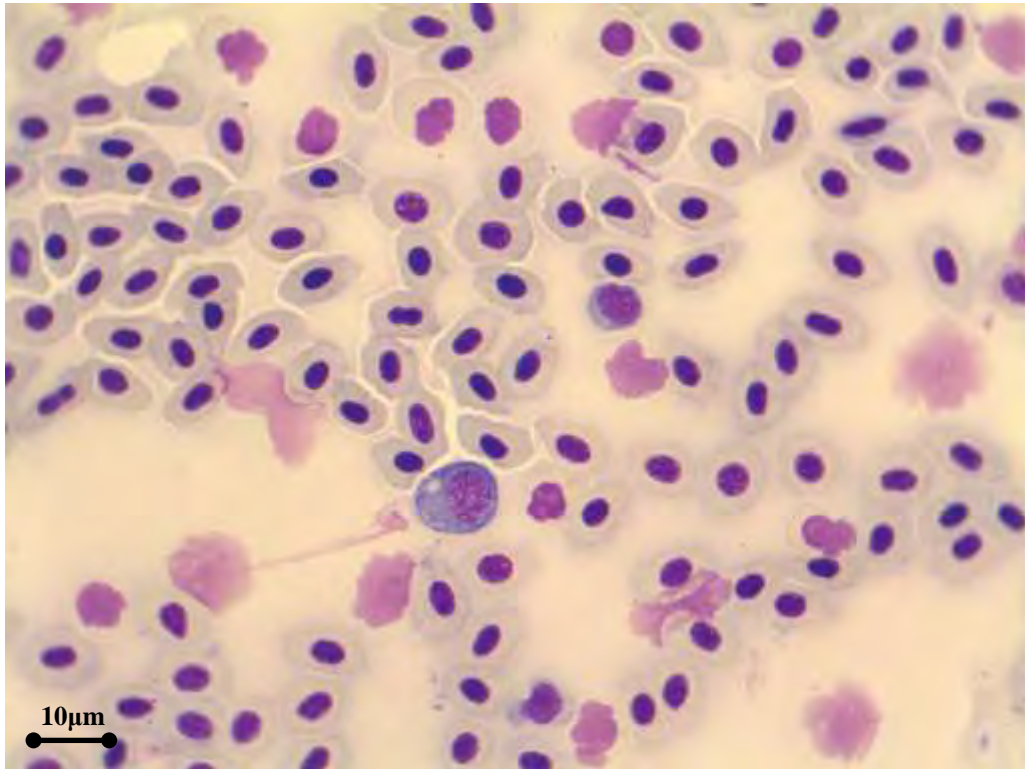


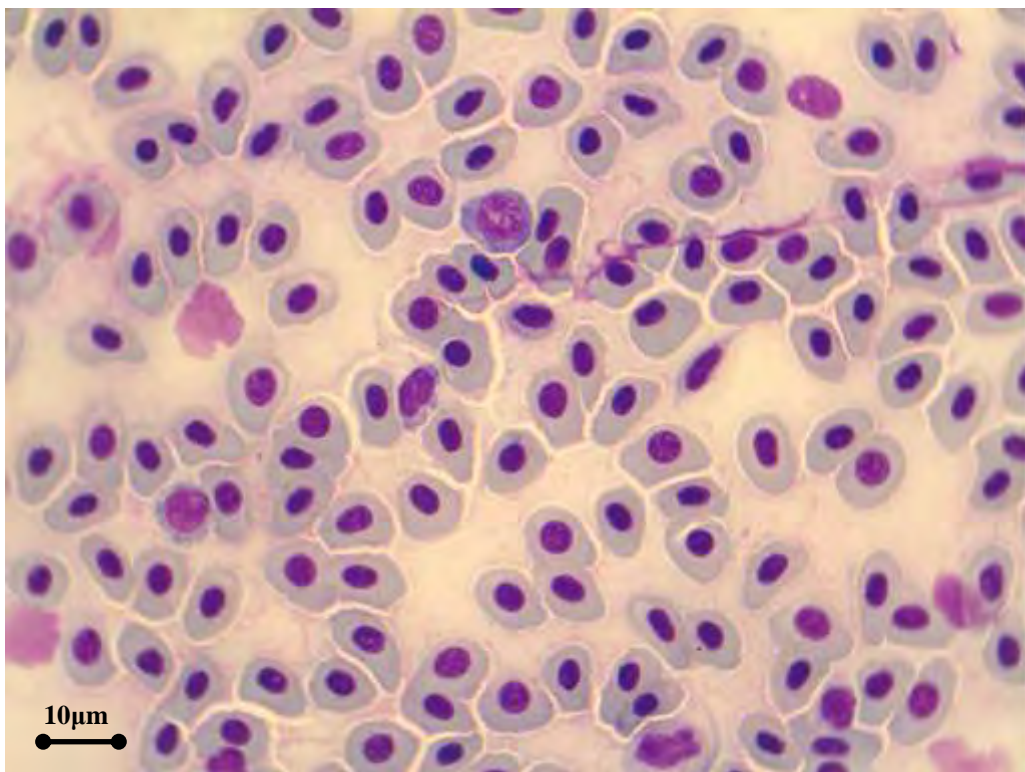
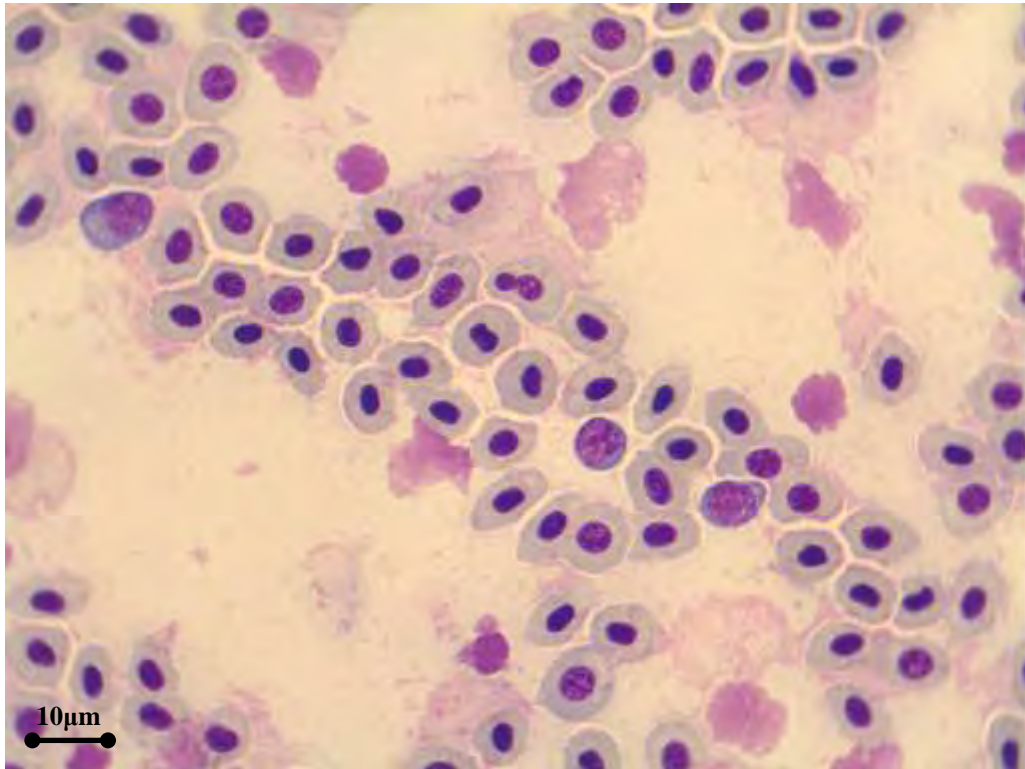
Εικόνα 17: Θρομβοκύτταρα (Th) και λεμφοκύτταρο (Ly) σε επιχρίσματα αίματος λαβρακιού.

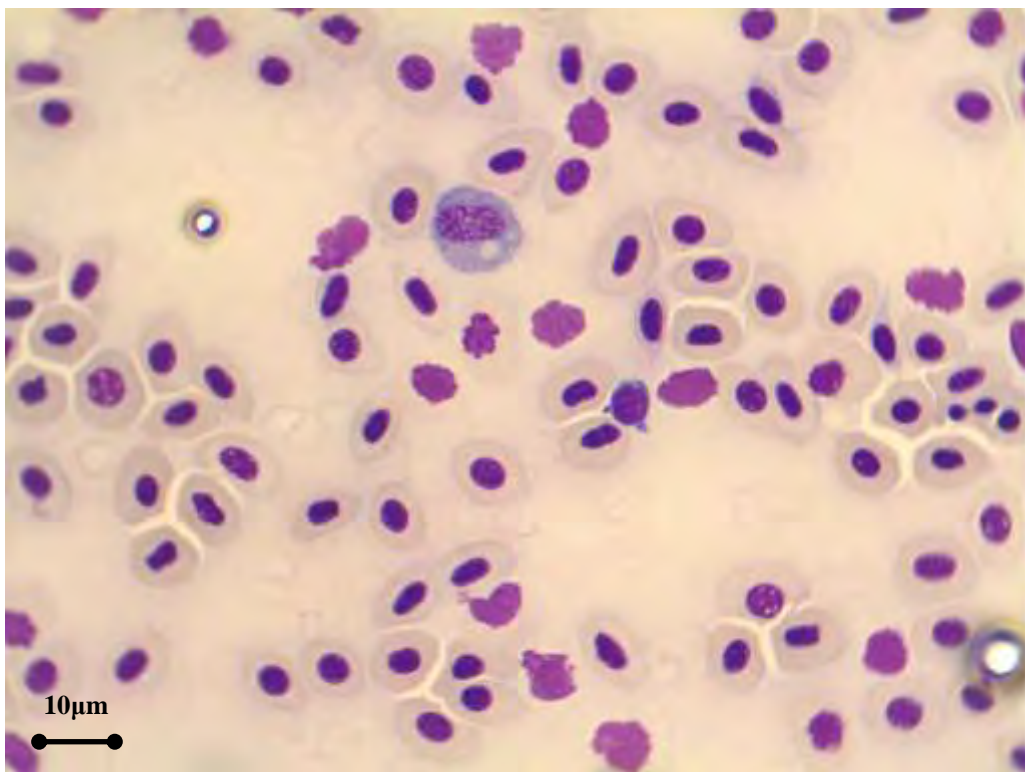
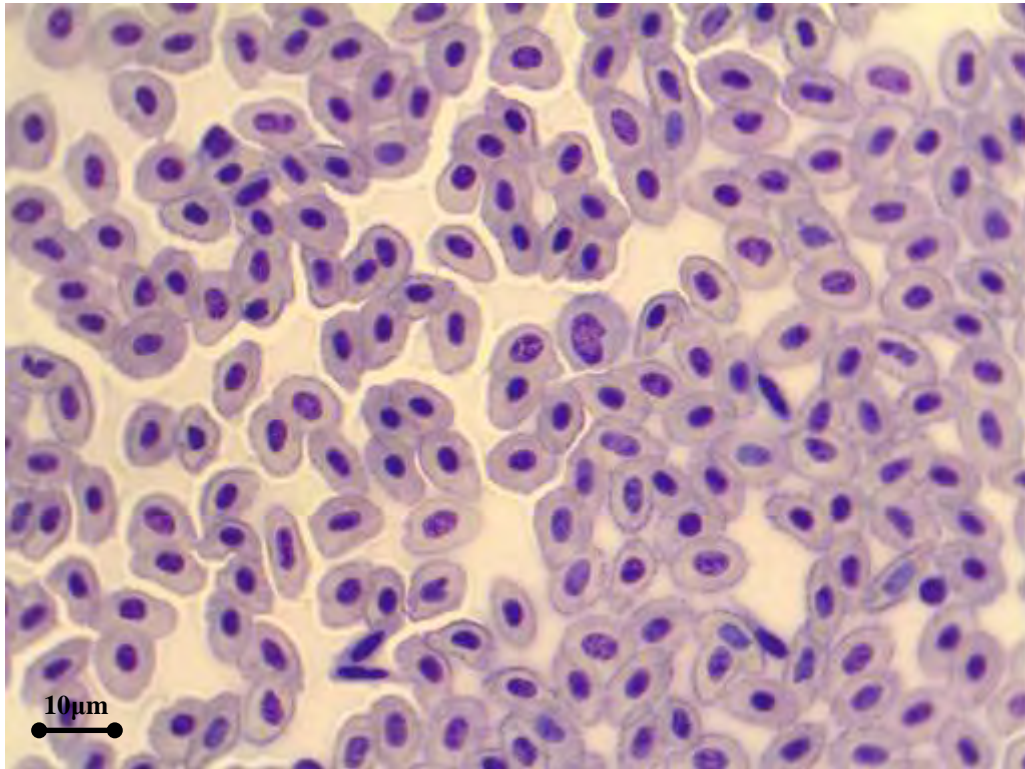
Παρακάτω παρατίθενται φωτογραφίες από τα επιχρίσματα αίματος που έγιναν τα λαβράκια της μελέτης μας.

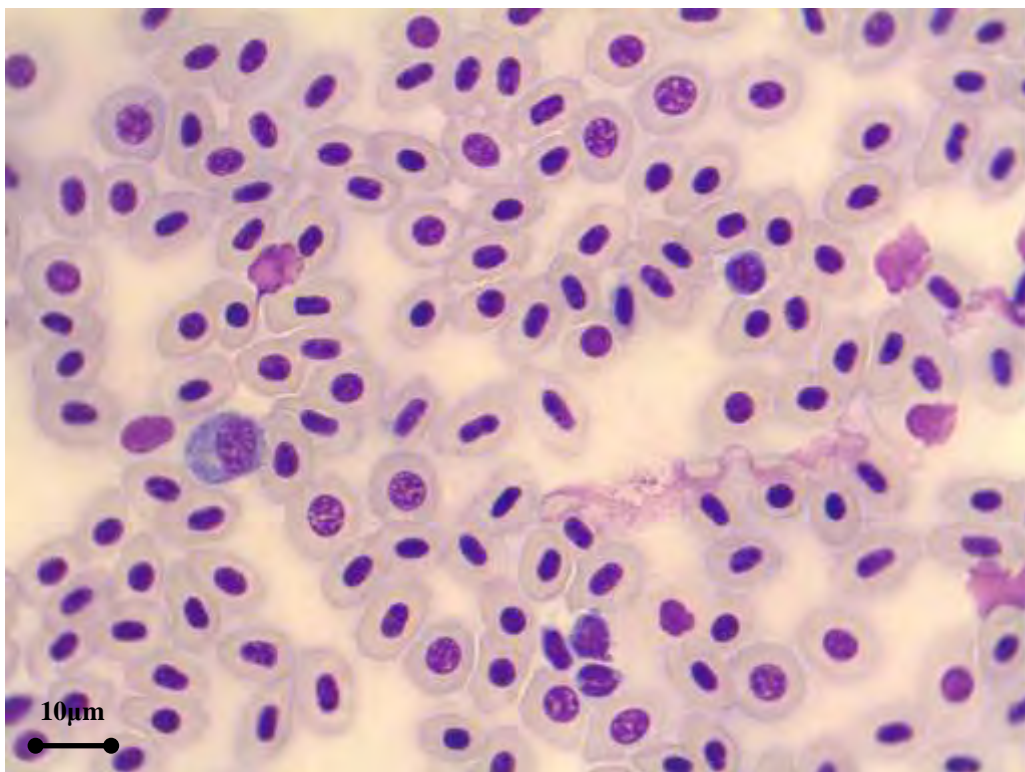
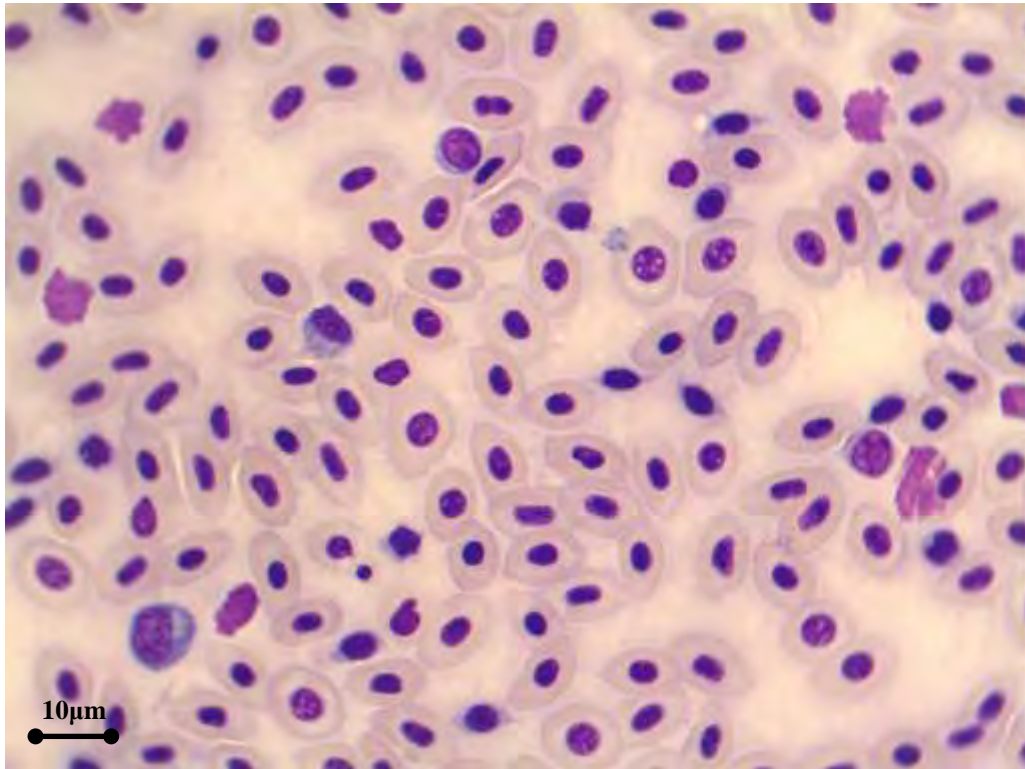


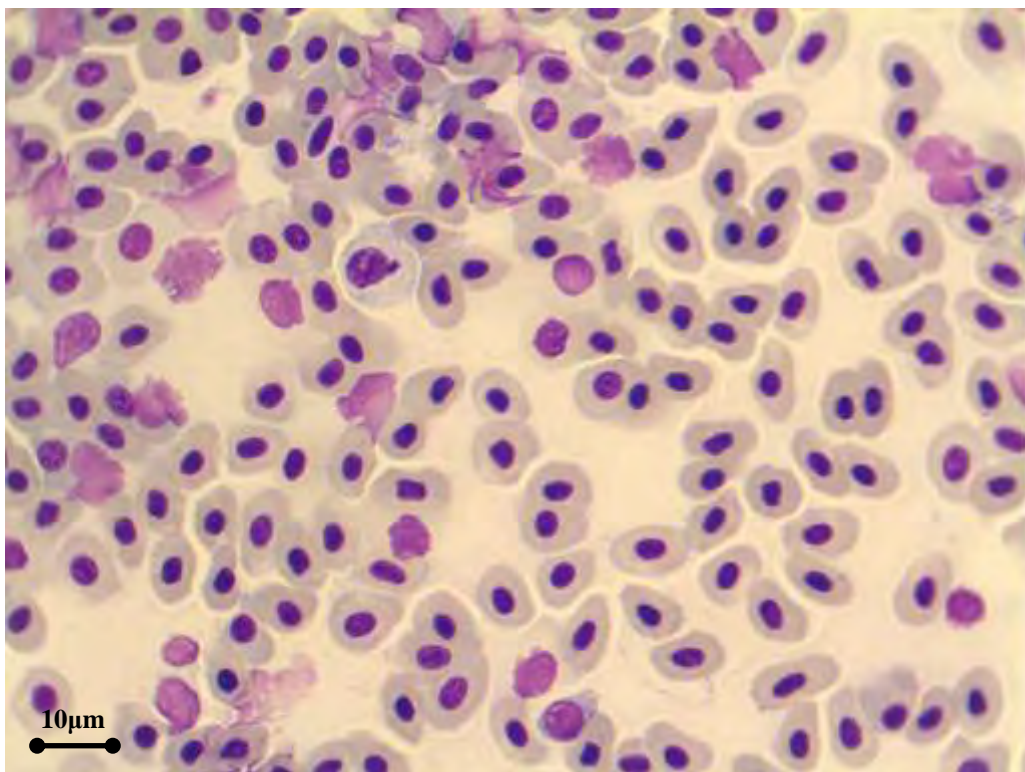
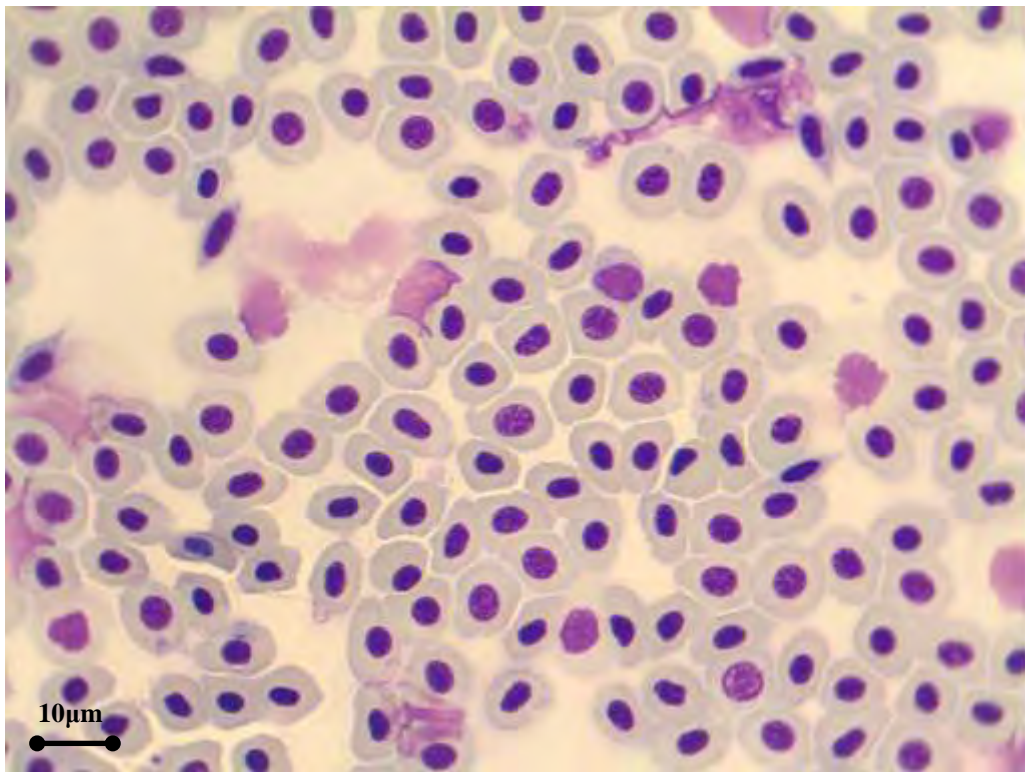


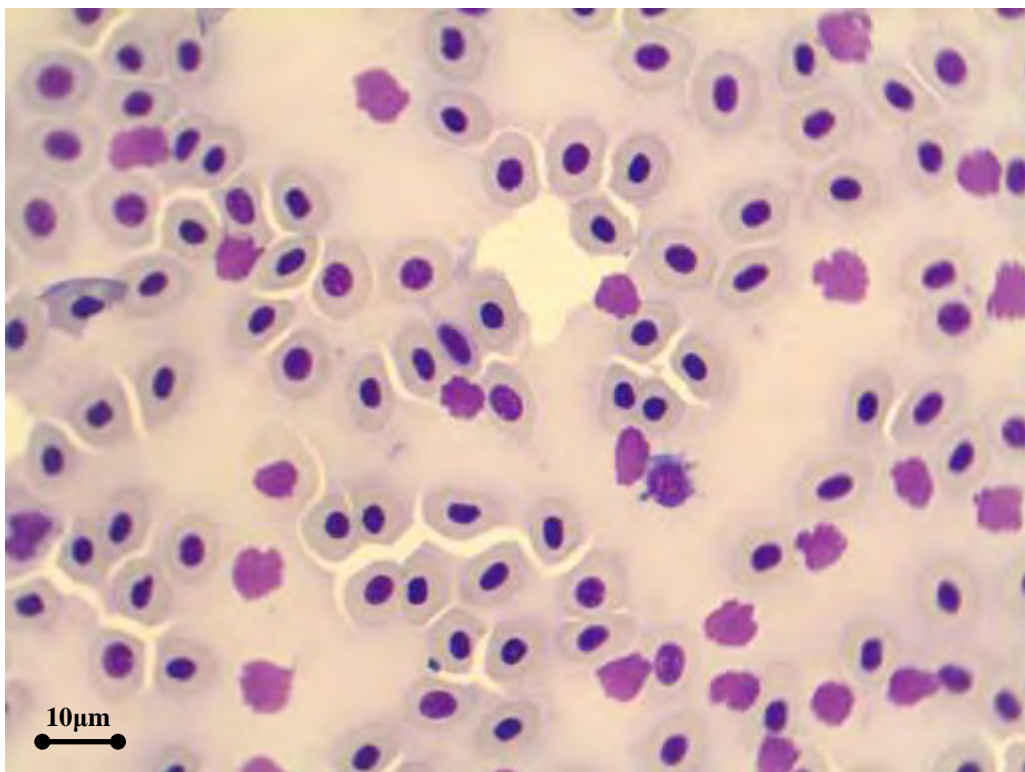
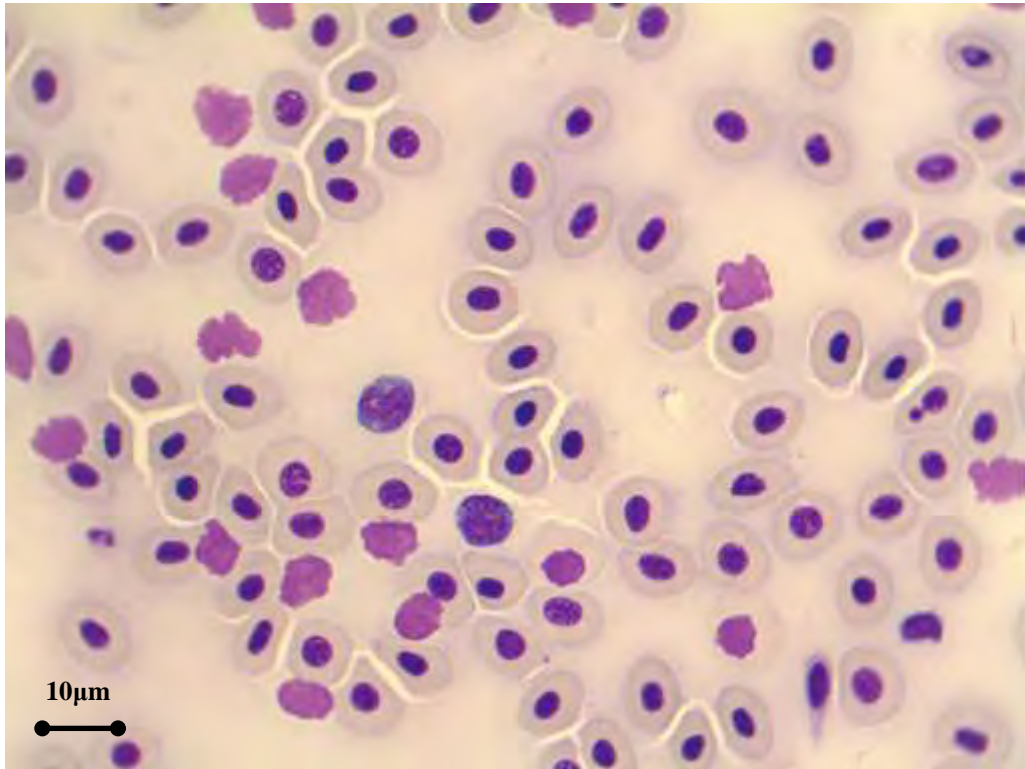


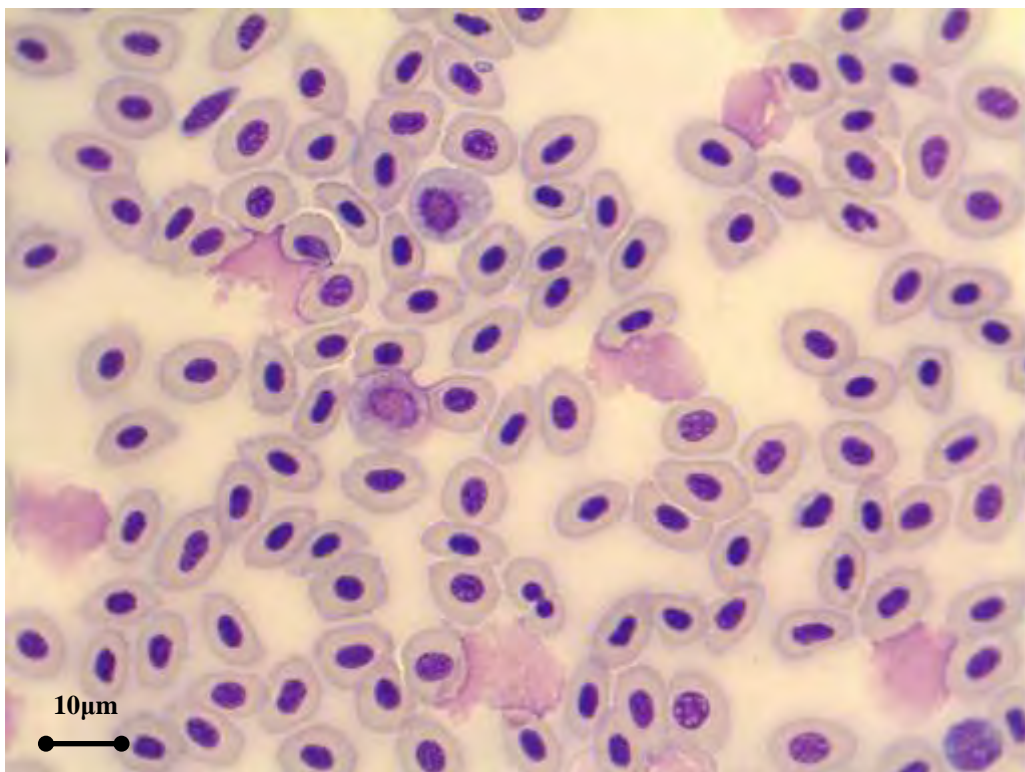
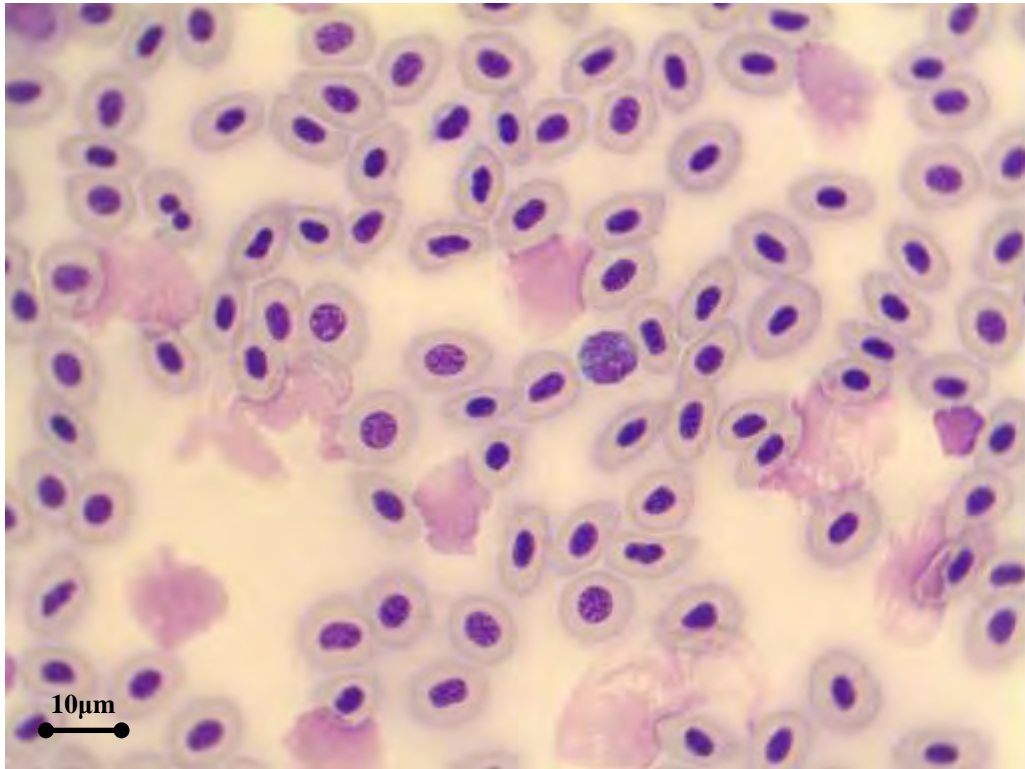


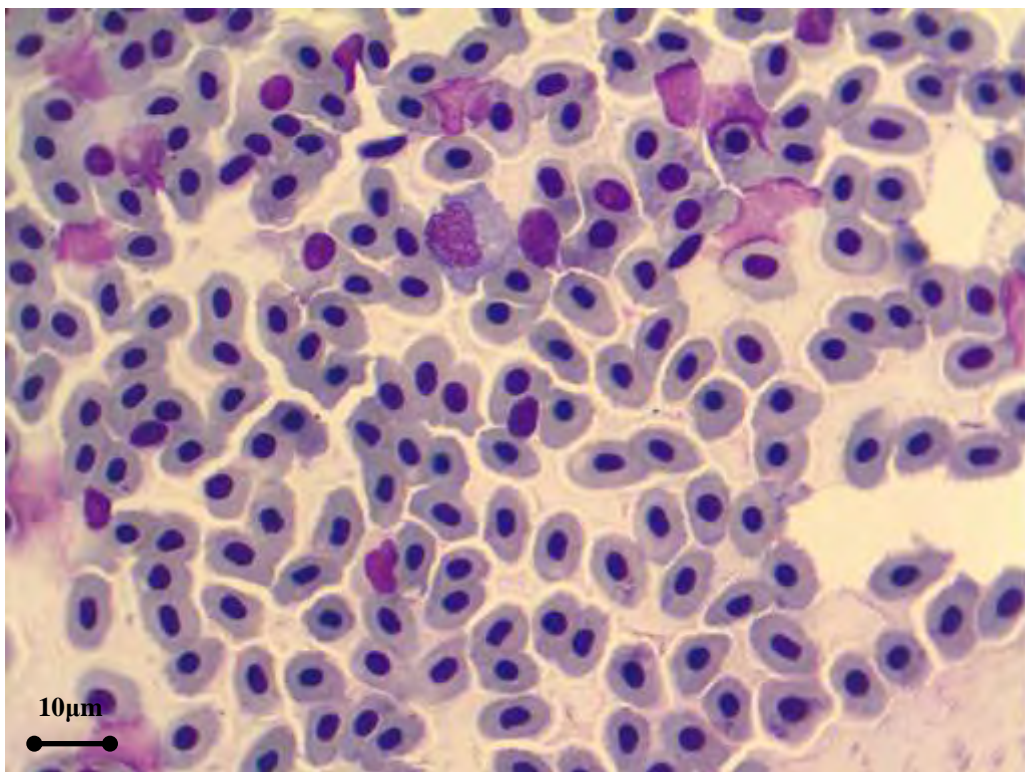
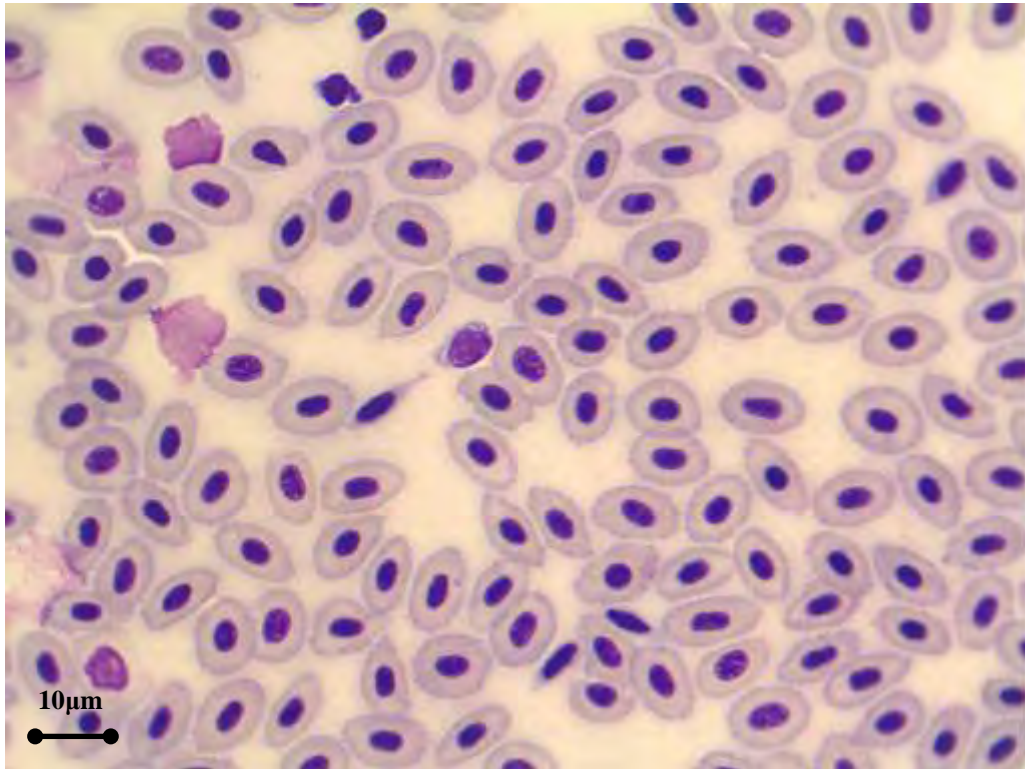


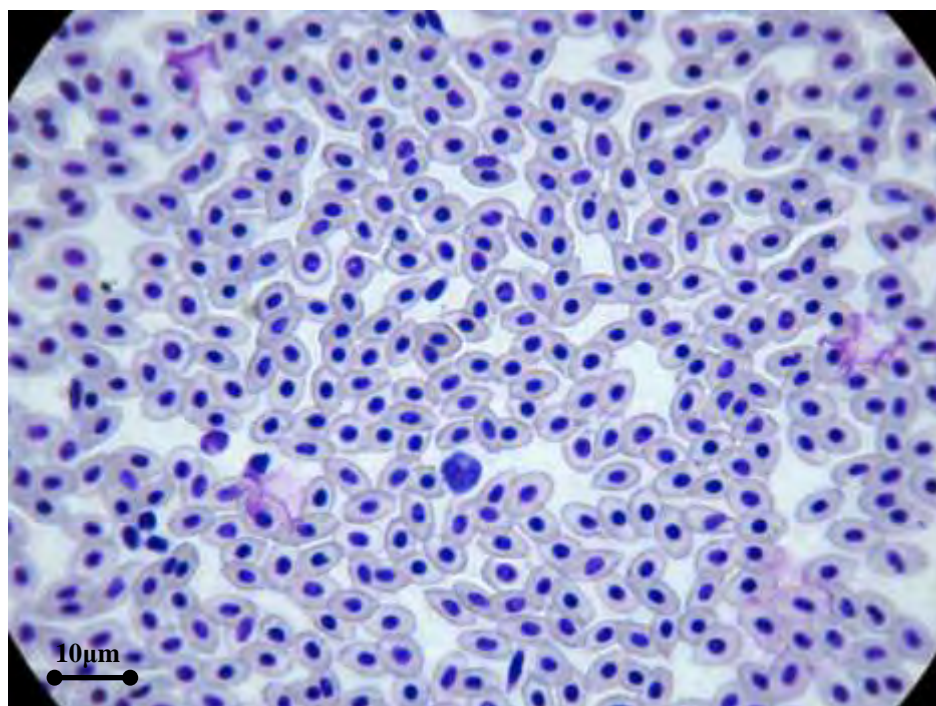
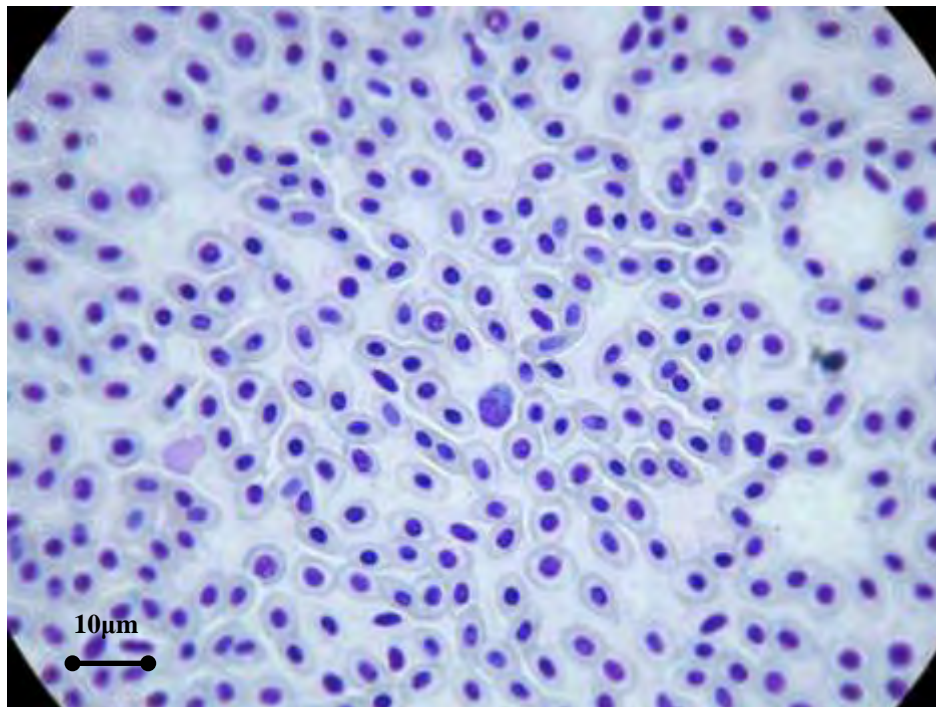












5. ΣΥΖΗΤΗΣΗ

5.1. ΑΙΜΑΤΟΛΟΓΙΚΟΙ ΠΑΡΑΜΕΤΡΟΙ ΣΤΟ *DICENTRARCHUS LABRAX*

Το αιματολογικό προφίλ στα ψάρια δεν χρησιμοποιείται σχεδόν καθόλου για την εκτίμηση της υγείας τους, γιατί πρώτα από όλα είναι δύσκολη η συλλογή των δειγμάτων αίματος, δεύτερον, δεν υπάρχει εξοικείωση στην μικροσκόπηση των αιματολογικών επιχρισμάτων και βέβαια δεν υπάρχουν καθορισμένα στοιχεία αναφοράς, που να διευκολύνουν τόσο την ανάγνωση των αιμογραμμάτων, όσο και τα αποτελέσματα των αιματολογικών εξετάσεων (Clauss et al., 2008).

Παρ' όλα αυτά, η αξιολόγηση των αιματολογικών παραμέτρων δίνουν χρήσιμες πληροφορίες για την υγεία των ψαριών, ειδικά σε ότι έχει να κάνει με τα συγγενή και επίκτητα νοσήματα, που προκαλούν μεταβολές στα κύτταρα του αίματος και στις τιμές της γενικής αίματος. Ιδιαίτερη σημασία θα πρέπει να δίνεται και σε εξωγενείς παράγοντες που μπορεί να επηρεάσουν τις φυσιολογικές τιμές, όπως το γένος, η ηλικία, η εποχή, η ποιότητα του νερού, ο τρόπος αλίευσης, οι χειρισμοί και τα διάφορα αναισθητικά, που ενδέχεται να έχουν χρησιμοποιηθεί (Bolasina 2006).

Γενικά, δεν υπάρχουν στη βιβλιογραφία τιμές αναφοράς για τον αιματοκρίτη, τον αριθμό των ερυθρών (RBC, μl^{-1}), τη συγκέντρωση της αιμοσφαιρίνης (Hb, gr/dl), το μέσο όγκο ερυθρών (MCV, fl), τη μέση εκατοστιαία περιεκτικότητα αιμοσφαιρίνης ανά ερυθροκύτταρο (MCHC gr/dl) και τη μέση περιεκτικότητα των ερυθροκυττάρων σε αιμοσφαιρίνη (MCH). Αυτό που φαίνεται από τις διάφορες μελέτες που έχουν γίνει μέχρι τώρα τόσο στο λαβράκι όσο και στα άλλα είδη ψαριών, είναι πως οι τιμές μεταβάλλονται ανάλογα με την ηλικία, το γένος, την ποιότητα του νερού, τη φωτοπερίοδο και την εποχή (Hrubec and Smith 2000).

Σαν γενική αρχή επικρατεί η άποψη πως αιματοκρίτης με τιμή 45% και πάνω είναι ένδειξη πολυκυτταραιμίας στο ψάρι η οποία μπορεί να οφείλεται σε αφυδάτωση του οργανισμού ειδικά αν συνοδεύεται από αύξηση των ολικών πρωτεϊνών του αίματος. Επίσης πολυκυτταραιμία συναντούμε στα σεξουαλικά ώριμα αρσενικά ψάρια, στα ψάρια που εκτίθενται σε υποξία και σε stress (Blaxhall 1972; Fange 1992; McDonald and Milligan 1992).

Τα είδη της αναιμίας στο ψάρι είναι ικανοποιητικώς μελετημένες και αναφερόμαστε σε τιμές αιματοκρίτη κάτω του 20%. Υπάρχουν τρία είδη αναιμίας: η αιμορραγική (απώλεια αίματος), η αιμολυτική (καταστροφή των ερυθροκυττάρων) και η

υποπλαστική (μειωμένη ερυθροποίηση). Η ορολογία που χρησιμοποιείται για το διαχωρισμό των τριών ειδών αναιμίας στο ψάρι είναι η ίδια που εφαρμόζεται και στα άλλα είδη ζώων και αφορά στο μέγεθος των κυττάρων (μικροκυτταρική, μακροκυτταρική και ορθοκυτταρική), στη συγκέντρωση αιμοσφαιρίνης (υπόχρωμη και ορθόχρωμη), στην καταστροφή κυττάρων (αιμολυτική ή αιμορραγική) και στο αν είναι αναγεννητική ή μη αναγεννητική. Σε κάθε περίπτωση πάντως η περιγραφή των κυττάρων του αίματος δίνουν πληροφορίες για τον αιτιολογικό παράγοντα της κάθε αναιμίας.

Τα αίτια της μη αναγεννητικής αναιμίας μπορεί να είναι διάφορες φλεγμονώδεις νόσοι, διατροφικές διαταραχές, τοξίνες και ασθένειες της σπλήνας και των νεφρών. Αναγεννητική αναιμία και επομένως παρουσία άωρων ερυθροκυττάρων στο περιφερικό αίμα μπορεί να έχουμε σε περιπτώσεις περιβαλλοντικού stress, όπως σε υποξία, τοξίνες και αλλαγές της θερμοκρασίας (Groff and Zinkl 1999). Η αιμορραγική αναιμία στο ψάρι μπορεί να οφείλεται σε τραύμα, έλκη, παράσιτα όπως ισόποδα (Nair and Nair 1983), έλλειψη βιταμινών K και B (Groff and Zinkl 1999), ιούς όπως ο ιός της αιμορραγικής σηψαιμίας (Castric and Kinkelin 1984) και βακτήρια (*Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Yersinia* spp.) (Thune et al., 1993; Tobback et al., 2007). Σε περίπτωση που η αιμορραγική αναιμία είναι χρόνια μπορεί να επιδεινώνεται από απώλεια σιδήρου (Groff and Zinkl 1999). Η αιμολυτική αναιμία στο ψάρι μπορεί να οφείλεται σε βακτήρια όπως *Flavobacterium columnare*, *Aeromonas* spp., *Pseudomonas* spp., *Vibrio* spp. (Roberts and Ellis 2001; Rehulka and Minarik 2007), περιβαλλοντικές τοξίνες όπως τα νιτρικά (Saroglia et al., 1981; Scarano and Saroglia 1984), η οξεία ή χρόνια έκθεση στην αμμωνία (Tudor et al., 1994; Lemarie et al., 2004), το διοξείδιο του άνθρακα (Grottum and Sigholt 1996), οι μυκοτοξίνες (El-Sayed et al., 2009) και ο υδράργυρος (Sarmiento et al., 2004; Giari et al., 2008), ιοί όπως ο ιός της νέκρωσης των ερυθροκυττάρων (VEN) (Pinto et al., 1991). Τέλος η υποπλαστική αναιμία μπορεί να οφείλεται στο βακτήριο *Yersinia* (Tobback et al., 2007), σε τοξίνες όπως η αμμωνία και τα βαρέα μέταλλα (Groff and Zinkl 1999), η έλλειψη βιταμίνης B12 και σε ασθένειες της σπλήνας και των νεφρών (Ferguson 1989). Επιπλέον στο λαβράκι έχουν ενοχοποιηθεί διάφορα παράσιτα τα οποία προκαλούν μεταβολές στις αιματολογικές παραμέτρους (Alvarez-Pellitero and Pinto 1987) προκαλώντας κυρίως αιμορραγική ή μακροκυτταρική αναιμία, όπως το

Ceratothoa oestroides (Horton and Okamura 2003) και το *Nerocila orbignyi* (Bragoni et al., 1983).

Στο πείραμα που πραγματοποιήσαμε, το αίμα το πήραμε από λαβράκια εκτροφής εμπορεύσιμου μεγέθους και σε θερμοκρασία νερού 24°C τον μήνα Ιούλιο. Ο μέσος όρος του ολικού μήκους των 20 ψαριών που χρησιμοποιήθηκαν για τη μελέτη των αιματολογικών παραμέτρων ήταν 31,42cm και ο μέσος όρος του βάρους 329,35gr gr. Από τις αναλύσεις που έγιναν σε κτηνιατρικό εργαστήριο, βρήκαμε πως η μέση τιμή του αιματοκρίτη που μετρήθηκε υπό αυτές τις συνθήκες εκτροφής και διαχείρισης είναι 32.3%.

5.2. ΜΟΡΦΟΛΟΓΙΑ ΤΩΝ ΚΥΤΤΑΡΩΝ ΤΟΥ ΑΙΜΑΤΟΣ

a) Ερυθροκύτταρα

Από τα επιχρίσματα αίματος που έγιναν, παρατηρήθηκε ότι τα ερυθρά αιμοσφαίρια του λαβρακιού έχουν σχήμα ελλειπτικό και είναι εμπύρηννα, όπως και σε όλα τα είδη ψαριού. Επίσης, παρατηρήθηκε και μικρό ποσοστό άωρων ερυθρών ή αλλιώς δικτυοερυθροκυττάρων, τα οποία είναι σαφώς μεγαλύτερα σε μέγεθος από τα ώριμα και με σχήμα περισσότερο στρογγυλό. Το γεγονός ότι εντοπίζονται δικτυοερυθροκύτταρα στο αίμα σημαίνει πως ένα μέρος της ερυθροποίησης πραγματοποιείται στα ψάρια και στο περιφερικό αίμα. Ο λόγος των άωρων ερυθροκυττάρων προς των ώριμων μέσα στο αίμα μπορεί να αποτελέσει στο ψάρι, όπως και στα υπόλοιπα είδη ζώων, δείκτη ερυθροποίησης (Fijan 2002b).

Το γεγονός ότι η ερυθροποίηση στο ψάρι μπορεί να επηρεαστεί από την αναιμία, τις μεταβολές της θερμοκρασίας, την εναλλαγή των εποχών (Lecklin and Nikinmaa 1998) καθώς και από την αιμορραγία (Fijan 2002b), μπορεί να σημαίνει πως στις παραπάνω περιπτώσεις μεταβάλλεται και ο αριθμός των δικτυοερυθροκυττάρων που κυκλοφορούν στο περιφερικό αίμα. Τέλος, ως δείκτης ερυθροποίησης, ο αριθμός των άωρων ερυθροκυττάρων μπορεί να διαφοροποιηθεί εξαιτίας κάποιας αναιμίας ή κάποιας μεταβολής στις συνθήκες του περιβάλλοντος, όπως η θερμοκρασία και η διαθεσιμότητα του νερού σε οξυγόνο.

b) Λευκοκύτταρα

Τα λευκοκύτταρα ποικίλλουν τόσο πολύ ανάλογα με το είδος του ψαριού, που είναι δύσκολο ακόμα και ν' αναγνωριστούν κάποιοι τύποι κυττάρων. Συχνά χρησιμοποιείται για την αναγνώρισή τους η σύγκρισή τους μορφολογικά με λευκοκύτταρα από τα ανώτερα θηλαστικά, ενώ μια άλλη λύση είναι το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο.

Κοκκιοκύτταρα

Οι πληροφορίες που υπάρχουν για τα κοκκιοκύτταρα των ψαριών είναι πολύ συγκεχυμένες (Rowley et al., 1988). Θεωρητικά τα τρία είδη κοκκιοκυττάρων που υπάρχουν στο αίμα των θηλαστικών (ουδετερόφιλα, βασίφιλα και εωσινόφιλα) υπάρχουν και στα ψάρια (Doggett and Harris 1989; Meseguer et al., 1990). Παρ' όλα αυτά σε κάποια είδη περιγράφονται πάνω από τρία είδη (Mainwaring and Rowley 1985) σε άλλα ένα ή δύο (Savage 1983). Τα πιο πολλά κοκκιοκύτταρα που συναντούμε στα λαβράκια της μελέτης είναι τα ουδετερόφιλα, τα οποία σε μέγεθος είναι μεγαλύτερα ή ίσα με τα ώριμα ερυθρά και έχουν πυρήνα λοβώδη. Το ποσοστό των ουδετερόφιλων στο αίμα των λαβρακίων της μελέτης ήταν κατά μέσο όρο 27.8%. Δεν παρατηρήθηκαν στα επιχρίσματα αίματος του λαβρακιού καθόλου εωσινόφιλα και βασίφιλα κοκκιοκύτταρα.

Λεμφοκύτταρα

Τα λεμφοκύτταρα είναι τα περισσότερα αριθμητικά αλλά και τα περισσότερα ποικιλόμορφα λευκοκύτταρα των ψαριών (Ellis 1977). Το ποσοστό των λεμφοκυττάρων στο αίμα των ψαριών της μελέτης είναι κατά μέσο όρο 71.2%. Στα λαβράκια τα λεμφοκύτταρα που παρατηρήθηκαν είναι σφαιρικά σε σχήμα και σε μέγεθος κυρίως μικρότερα του ερυθροκυττάρου. Επίσης παρατηρήθηκαν και μεγαλύτερου μεγέθους λεμφοκύτταρα τα οποία ονομάζονται πλασμοκύτταρα (plasma cells) και είναι πολύ σπάνια στα επιχρίσματα υγιών ψαριών, όπως έχει αποδειχθεί και σε μελέτες που χρησιμοποίησαν διάφορες τεχνικές ανοσοφθορισμού (Chiller et al., 1969; Ellis 1976).

Σε κάποιες μελέτες που έχουν γίνει, τα λεμφοκύτταρα έχουν κατηγοριοποιηθεί αυθαίρετα σε μικρά και μεγάλα λεμφοκύτταρα (Ellis 1977). Οι (Ellis 1976) και (Roubal 1986) περιέγραψαν τα λεμφοκύτταρα σε μία ομάδα. Συχνά, είναι δύσκολο να

προσδώσεις το επίθετο «μικρό» ή «μεγάλο» στα λεμφοκύτταρα, καθώς ο όγκος τους μεταβάλλεται συνεχώς.

Μονοκύτταρα

Το μέγεθός τους είναι όμοιο ή λίγο μεγαλύτερο από αυτό των ουδετερόφιλων και σίγουρα μεγαλύτερο των ερυθρών. Το χαρακτηριστικό τους είναι η παρουσία κενотоπίων στο κυτταρόπλασμα. Το ποσοστό των μονοκυττάρων στο αίμα των λαβρακίων είναι κατά μέσο όρο 3.7%.

Ο διαχωρισμός τους από τα ουδετερόφιλα είναι ευκολότερος με το ηλεκτρονικό μικροσκόπιο ενώ συχνά χρησιμοποιείται ο όρος μονοκύτταρα / μακροφάγα για να περιγραφεί αυτή την κατηγορία κυττάρων (Barber et al., 1981; Savage 1983) με φαγοκυτταρικές ιδιότητες (Morrow and Pulsford 1980) ή μορφολογικά χαρακτηριστικά όμοια με αυτά των μονοκυττάρων των ανώτερων θηλαστικών (Rowley et al., 1988).

c) Αιμοπετάλια ή θρομβοκύτταρα

Τα αιμοπετάλια ή αλλιώς θρομβοκύτταρα στο ψάρι δεν είναι ίδια με τα αιμοπετάλια των θηλαστικών. Μορφολογικά, στο λαβράκι παρατηρήθηκε πως έχουν κατά κύριο λόγο σχήμα ατρακτοειδές, με πυρήνα που ακολουθεί το σχήμα του κυττάρου. Συνήθως, απαντώνται ως μεμονωμένα κύτταρα και σπάνια σε ομάδες. Στη μελέτη, η μέση τιμή των αιμοπεταλίων στο αίμα των λαβρακίων είναι $371.5 \times 10^3/\mu\text{l}$. Όσον αφορά στη λειτουργία τους, στα ψάρια έχει αναφερθεί ότι παίζουν κάποιο ρόλο στην πήξη του αίματος, ενώ τους προσδίδονται και φαγοκυτταρικές ιδιότητες (Ellis 1976). Παρόλο που τα θρομβοκύτταρα στο ψάρι είναι άφθονα, είναι πολύ λίγα καταγεγραμμένα για τη μορφολογία τους και για τις λειτουργικές του ιδιότητες (Rowley et al., 1988).

5.3. ΛΕΜΦΟΚΥΤΤΑΡΩΣΗ ΣΤΟ *DICENTRARCHUS LABRAX*

Στα αποτελέσματα των αιματολογικών εξετάσεων αλλά και στην παρατήρηση των επιχρισμάτων αίματος διαπιστώθηκε πως το ποσοστό των λεμφοκυττάρων στα λαβράκια της μελέτης μας είναι ιδιαίτερα υψηλό. Συγκεκριμένα τα λεμφοκύτταρα στο αίμα έχουν κατά μέσο όρο ποσοστό 71.2% έναντι του 27.8% των ουδετερόφιλων.

Η λεμφοκυττάρωση στο περιφερικό αίμα αποτελεί γενικά στα ανώτερα θηλαστικά ένδειξη χρόνιας ασθένειας. Στα ψάρια όμως κάποια είδη στο περιφερικό αίμα έχουν περισσότερα λεμφοκύτταρα (Pavlidis et al., 2007) χωρίς αυτό να υποδεικνύει κάποιο πρόβλημα του οργανισμού.

Δεν θα πρέπει να παραβλέψουμε το ενδεχόμενο λάθους στην αναγνώριση των κυττάρων καθώς στα ψάρια υπάρχει η πιθανότητα της μη σωστής διαφοροποίησης των λευκών από κάποια λυμένα ερυθρά ή ενεργοποιημένα θρομβοκύτταρα. Συγκεκριμένα καθώς τα θρομβοκύτταρα ενεργοποιούνται γίνονται περισσότερο στρογγυλά και μοιάζουν πολύ με λεμφοκύτταρα. Επίσης τα ερυθροκύτταρα μπορεί να λυθούν στο αραιωτικό του αίματος που χρησιμοποιήθηκε για την καταμέτρηση των κυττάρων και ο πυρήνας τους να βαφτεί με τέτοιο τρόπο ώστε να μοιάζει πολύ με λεμφοκύτταρο (Hrubec and Smith 2000).

5.4. ΤΑ ΕΠΙΧΡΙΣΜΑΤΑ ΑΙΜΑΤΟΣ ΤΟΥ *Dicentrarchus labrax* ΚΑΙ Η ΧΡΩΣΗ ΠΟΥ ΕΒΑΨΕ ΤΑ ΚΥΤΤΑΡΑ

Σ' αυτήν την εργασία, σκοπός μας ήταν η μελέτη και περιγραφή των κυττάρων του περιφερικού αίματος του εκτρεφόμενου λαβρακιού (*Dicentrarchus labrax*) εμπορεύσιμου μεγέθους, σε συνήθεις συνθήκες εκτροφής στην χώρα μας. Για αυτόν το λόγο, τα επιχρίσματα αίματος έπρεπε να βαφτούν με μια χρώση, η οποία θα απεικόνιζε με τον καλύτερο δυνατό τρόπο τα στοιχεία του αίματος και θα μας επέτρεπε να τα διαφοροποιήσουμε μεταξύ τους με σαφήνεια.

Υπάρχουν αναφορές για χρήση τόσο της Giemsa stain (Esteban et al., 2000) όσο και της τροποποιημένης Giemsa ή αλλιώς Romanowsky (Hrubec and Smith 2000; Zexia et al., 2006) σε μελέτες μορφολογίας κυττάρων αίματος από ψάρια, των οποίων τα αποτελέσματα σύμφωνα με τις φωτογραφίες είναι ικανοποιητικά.

Στην προσπάθεια να απεικονιστούν με τον καλύτερο τρόπο τα κύτταρα του αίματος του λαβρακιού, από κάθε δείγμα αίματος έγιναν δύο επιχρίσματα με σκοπό να τα βαφτούν με διαφορετικές χρώσεις. Χρησιμοποιήθηκε η Giemsa και τη Diff Quick και παρατηρήθηκαν τα επιχρίσματα στο μικροσκόπιο. Από την παρατήρηση προκύπτει με βάση τις φωτογραφίες που παραθέτονται στα αποτελέσματα, ότι η Diff Quick ήταν η

χρώση η οποία διευκόλυνε στην παρατήρηση των κυττάρων και συνέβαλλε στη διαφοροποίησή τους.

6.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

1. Η διαφορά των τυπικών αποκλίσεων του βάρους και του μήκους των ψαριών στους δύο πληθυσμούς μας δεν είναι στατιστικώς σημαντική, άρα οι τιμές των αιματολογικών παραμέτρων στα 20 ψάρια μπορούν να αντιπροσωπεύσουν, χωρίς μεγάλο στατιστικό λάθος, αυτές του πληθυσμού των 150 υπό τις δεδομένες συνθήκες εκτροφής.
2. Η μέση τιμή του αιματοκρίτη που μετρήθηκε υπό αυτές τις συνθήκες εκτροφής και διαχείρισης είναι 32.3%.
3. Στα επιχρίσματα περιφερικού αίματος υπάρχουν και δικτυοερυθροκύτταρα.
4. Το ποσοστό των ουδετερόφιλων στο αίμα των λαβρακιών της μελέτης ήταν κατά μέσο όρο 27.8%
5. Δεν ανιχνεύτηκαν καθόλου εωσινόφιλα και βασίφιλα κοκκιοκύτταρα στο περιφερικό αίμα του λαβρακιού.
6. Το ποσοστό των λεμφοκυττάρων στο αίμα των ψαριών της μελέτης είναι κατά μέσο όρο 71.2%. Αυτή η λεμφοκυττάρωση ενδέχεται να οφείλεται σε μη διαφοροποίηση των λεμφοκυττάρων από τα ενεργοποιημένα αιμοπετάλια και τους πυρήνες των λυμένων ερυθρών.
7. Το ποσοστό των μονοκυττάρων στο αίμα των λαβρακιών είναι κατά μέσο όρο 3.7%.
8. Η μέση τιμή των αιμοπεταλίων στο αίμα των λαβρακιών είναι $371.5 \times 10^3/\mu\text{l}$. Όσον αφορά στη λειτουργία τους, στα ψάρια έχει αναφερθεί ότι παίζουν κάποιο ρόλο στην πήξη του αίματος ενώ τους προσδίδονται και φαγοκυτταρικές ιδιότητες.
9. Η Diff Quick ήταν η χρώση η οποία διευκόλυνε στην παρατήρηση των κυττάρων του είδους *Dicentrarchus labrax* και συνέβαλλε στη διαφοροποίησή τους.

7.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. Alvarez-Pellitero P, Pinto RM (1987) Some blood parameters in sea bass, *Dicentrarchus labrax*, infected by bacteria, virus and parasites. J Fish Biol, **31**(sA) p:259-261
2. Apostolopoulos I, Tsouknidis A, Christopoulos C (1994) Production of seabass and seabream in Greece: present situation, problems and prospects. Agricultural Bank of Greece Publications, Athens, Greece,
3. Ashley PJ (2007) Fish welfare: current issues in aquaculture. Applied Animal Behavior Science, **104**(3-4) p:199-235
4. Barber DL, Westermann JEM, White MG (1981) The blood cells of the antarctic icefish *Chaenocephalus aceratus* Loennberg: light and electron microscopic observations. J Fish Biol, **19**(1) p:11-28
5. Bennani N, Schmid-Alliana A, Lafaurie M (1995) Evaluation of phagocytic activity in a teleost fish, *Dicentrarchus labrax*. Fish Shellfish Immunol, **5**(3) p:237-246
6. Bielek E (1981) Developmental stages and localization of peroxidatic activity in the leucocytes of three teleost species (*Cyprinus carpio* L.; *Tinca tinca* L.; *Salmo gairdneri* Richardson). Cell Tissue Res, **220**(1) p:163-180
7. Blaxhall PC (1972) The hematological assessment of the health of freshwater fish: a review of selected literature. J Fish Biol, **4**(4) p:593-604
8. Bolasina SN (2006) Cortisol and hematological response in Brazilian codling, *Urophycis brasiliensis* (Pisces, Phycidae) subjected to anesthetic treatment. Aquac Int, **14**(6) p:569-575
9. Borges A, Scotti LV, Siqueira DR, Jurinitz DF, Wassermann GF (2004) Hematologic and serum biochemical values for jundiá (*Rhamdia quelen*) Fish Physiol Bioch, **30**(1) p:21-25
10. Bragoni G, Romestand B, Trilles JP (1983) Parasitoses a cymothoadien chez le loup (*Dicentrarchus labrax* Linnaeus, 1758) Enelevage. II Ecophysiologie parasitaire de l' etang de Diana (Haute-corse). Ann de Parasitol Hum Comp, **58**(2) p:593-609
11. Burton CB, Murray SA (1979) Effects of density on goldfish blood-I. Hematology. Comp Biochem Physiol, **62A**(3) p:555-558
12. Campbell TW (1988) Tropical fish medicine. Fish cytology and hematology. Vet Clin North Am Small Anim Pract, **18**(2) p:349-364

13. Castric J, Kinkelin P (1984) Experimental study of the susceptibility of two marine fish species, sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and turbot (*Scophthalmus maximus*), to viral haemorrhagic septicaemia. *Aquaculture*, **41**(3) p:203-212
14. Catton WT (1951) Blood cell formation in certain teleost fishes. *Blood*, **6**(1) p:39-60
15. Chiller JM, Hodgins HO, Chambers VC, Weiser RS (1969) Antibody response in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) I. Immunocompetent cells in the spleen and anterior kidney. *J Immunol*, **102**(5) p:1193-1201
16. Clauss TM, Dove AD, Arnold JE (2008) Hematologic disorders of fish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, **11**(3) p:445-462
17. Doggett TA, Harris JE (1989) Ultrastructure of the peripheral blood leucocytes of *Oreochromis mossambicus*. *J Fish Biol*, **34**(5) p:747-756
18. El-Sayed YS, Khalil RH, Saad TT (2009) Acute toxicity of ochratoxin-A in marine water-reared sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Chemosphere*, **75**(7) p:878-882
19. Ellis AE (1976) Leucocytes and related cells in the plaice *Pleuronectes platessa*. *J Fish Biol*, **8**(2) p:143-156
20. Ellis AE (1977) The leucocytes of fish: A review. *J Fish Biol*, **11**(5) p:453-491
21. Esteban MA, Meseguer J (1997) Factors influencing phagocytic response of macrophages from the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural and quantitative study. *Anat Rec*, **248**(4) p:533-541
22. Esteban MA, Meseguer J (1994) Phagocytic defence mechanism in sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural study. *Anat Rec*, **240**(4) p:589-597
23. Esteban MA, Munoz J, Meseguer J (2000) Blood cells of sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). Flow cytometric and microscopic studies. *Anat Rec*, **258**(1) p:80-89
24. Fange R (1992) Fish blood cells. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, editors. *Fish physiology*. San Diego (CA): Academic Press Inc, **12B**p:1-54
25. Ferguson HW (1989) Spleen, blood, lymph, thymus and reticuloendothelial system. In: Ferguson HW, editor. *Systemic pathology of fish*. Ames (IA): Iowa State University Press, p:90-103
26. Ferguson HW (1976) The ultrastructure of plaice (*Pleuronectes platessa*) leukocytes. *J Fish Biol*, **81**(2) p:139-142

27. Fijan N (2002b) Composition of main haematopoietic compartments in normal and bled channel catfish. *J Fish Biol*, **60**(5) p:1142-1154
28. Giari L, Simoni E, Manera M, Dezfuli BS (2008) Histo-cytological responses of *Dicentrarchus labrax* (L.) following mercury exposure. *Ecotoxicol Environ Saf*, **70**(3) p:400-410
29. Groff JM, Zinkl JG (1999) Hematology and clinical chemistry of cyprinid fish. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*, **2**(3) p:741-776
30. Groman DB (1982) Histology of the sea bass. In: American Fisheries Society, Bethesda, Maryland US, p:21-30
31. Grottum JA, Sigholt T (1996) Acute toxicity of carbon dioxide on seabass (*Dicentrarchus labrax*): mortality on plasma ions. *Comp Biochem Physiol*, **115A**(4) p:323-327
32. Heming TA (1989) Clinical studies of fish blood: importance of sample collection and measurement techniques. *Am J Vet Res*, **50**(1) p:93-97
33. Horton T, Okamura B (2003) Post-haemorrhagic anaemia in sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.), caused by blood feeding of *Ceratothoa oestroides* (Isopoda: Cymothoidae). *J Fish Dis*, **26**(7) p:401-406
34. Houston AH (1990) Blood and circulation. In: Schreck C, Moyle B, editors. *Methods in fish biology*. Bethesda (MD): American Fisheries Society, p:273-334
35. Houwen B (2000) Blood film preparation and staining procedures. *Lab Hem*, **6**(1) p:1-7
36. Hrubec T, Smith S (2000) Hematology in Fish. In: Feldman BF, Zinkl JG, Jain NC, editors. *Schalm's veterinary hematology*. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, p:1120-1125
37. Ioakimidis S (1994) Agricultural Bank of Greece. Annual Report, Athens: M. Savakis.
38. Ioakimidis S (1999) Agricultural Bank of Greece. Annual Report, Athens: M. Savakis.
39. Ioakimidis S (1998) Agricultural Bank of Greece. Annual Report, Athens: M. Savakis.
40. Ioakimidis S (1996) Agricultural Bank of Greece. Annual Report, Athens: M. Savakis.

41. Ioakimidis S (1995) Agricultural Bank of Greece. Annual Report, Athens: M. Savakis.
42. Ioakimidis S (1997) Agricultural Bank of Greece. Annual Report, Athens: M. Savakis.
43. Kallifeidas G (1997) Aquaculture. In: Trends and prospects in the agricultural sector, Mergos G and Papageorgiou K. Stamoulis Publishing Company, Athens, Greece, p:363-413
44. Karagiannis G, Katranidis S (2000) A production function analysis of seabass and seabream production in Greece. Journal of the World Aquaculture Society, **31**(3) p:297-305
45. Klaoudatos SD (1999) Environmental impact of aquaculture in Greece. Practical experiences. National Centre for Marine Research, Aghios Kosmas, 16604 Athens, Greece, p:109-127
46. Koumoundouros G, Pavlidis M, Anezaki L, Kokkari C, Sterioti A, Divanach P, Kentouri M (2002) Temperature sex determination in the European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L., 1758) (*Teleostei*, *Perciformes*, *Moronidae*): critical sensitive ontogenetic phase. J Exp Zool, **292**(6) p:573-579
47. Lecklin T, Nikinmaa M (1998) Erythropoiesis in Arctic charr is not stimulated by anaemia. J Fish Biol, **53**(6) p:1169-1177
48. Lemarie G, Dosdat A, Coves D, Dutto G, Gasset E, Ruyet Person Le J (2004) Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. Aquaculture, **229**(1-4) p:479-491
49. Lopez-Ruiz A, Angeles Esteban M, Meseguer J (1992) Blood cells of the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.): light and electron microscopic studies. Anat Rec, **234**(2) p:161-171
50. Mainwaring G, Rowley AF (1985) Separation of leukocytes in the dogfish (*Scyliorhinus canicula*) using density gradient centrifugation and differential adhesion to glass coverslip. Cell Tissue Res, **241**(2) p:283-290
51. Marsic-Lucic J, Mladineo I, Tudor M (2005) Comparative effectiveness of 2-phenoxyethanol and propiscin as anesthetics for juvenile sea bass *Dicentrarchus labrax* L. Aquac Int, **13**(6) p:543-553

52. Mary Anna Thrall, Dale CB, Terry WC, Dennis BDN, Martin JF, Duane E, Alan R, Glade W (2004) Hematology of Fish. In: Veterinary Hematology and Clinical Chemistry, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, p:277-289
53. McDonald DG, Milligan CL (1992) Chemical properties of the blood. In: Hoar WS, Randall DJ, Farrell AP, editors. Fish physiology. San Diego (CA): Academic Press Inc, **12B**p:55-133
54. McLeay DJ (1973) Effects of cortisol and dexamethasone on the pituitary-interrenal axis and abundance of white blood cell types in juvenile coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Gen Comp Endocrinol, **21**(3) p:441-450
55. Mente E, Pantazis P, Neofitou C, Aifanti S, Santos MB, Oxouzi E, Bagiatis V, Papapanagiotou E, Kourkouta V, Soutsas K (2007) Socio-economic interactions of fisheries and aquaculture in Greece: a case study of South Evoikos Gulf. Aquaculture Economics and Management, **11**(3) p:313-334
56. Meseguer J, Esteban MA, Garcia Ayala A, Lopez Ruiz A, Agulleiro B (1990) Granulopoiesis in the head-kidney of the sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.): an ultrastructural study. Arch Histol Cytol, **53**(3) p:287-296
57. Meseguer J, Lopez-Ruiz A, Esteban MA (1994) Cytochemical characterization of leukocytes from the seawater teleost, gilthead seabream (*Sparus aurata* L.). Histochemistry, **102**(1) p:37-44
58. Moretti A, Fernandez-Criado MP, Gittolin G, Guidastri R (1999) Manual on Hatchery Production of Seabass and Gilthead Seabream, FAO Rome. **1**p:194
59. Morrow WJW, Pulsford A (1980) Identification of peripheral blood leukocytes of the dogfish (*Scyliorhinus canicula* L.) by electron microscopy. J Fish Biol, **17**(4) p:461-475
60. Mulero V, Esteban MA, Munoz J, Meseguer J (1994) Non-specific cytotoxic response against tumor target cells mediated by leucocytes from seawater teleosts, *Sparus aurata* and *Dicentrarchus labrax*: an ultrastructural study. Arch Histol Cytol, **57**(4) p:351-358
61. Murray SA, Burton CB (1979) Effects of density on goldfish blood-II. Cell morphology. Comp Biochem Physiol, **62A**(3) p:559-562
62. Mylonas CC, Cardinaletti G, Sigelaki I, Polzonetti-Magni A (2005) Comparative efficacy of clove oil and 2-phenoxyethanol as anesthetics in the aquaculture of

- European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) and gilthead sea bream (*Sparus aurata*) at different temperatures. *Aquaculture*, **246**(1-4) p:467-481
63. Nair GA, Nair NB (1983) Effect of infestation with the isopod, *Alitropus typus* M. Edwards (*Crustacea: Flabellifera: Aegidae*) on the haematological parameters of the host fish, *Channa striatus* (Bloch). *Aquaculture*, **30**(1) p:11-19
 64. Papaefliou T (1996) *Aquaculture: present situation and prospects (1980-1996)*. Agricultural Bank of Greece Publications, Athens, Greece,
 65. Papoutsoglou SE (1995a) Greek aquaculture status and potential. Is it an exception or a common Balkan-European case? In: International Aquaculture Conference on Aquaculture in Eastern European Countries, Stara Zagora, Bulgaria,
 66. Papoutsoglou SE (1995b) Unknown parameters controlling the production cost in the intensive fish farming industry: an applied approach for rainbow trout, European sea bass and gilthead sea bream. In: International Aquaculture Conference on Aquaculture in Eastern European Countries, Stara Zagora, Bulgaria,
 67. Pavlidis M, Fitter WC, Katharios P, Divanach P (2007) Blood cell profile of six Mediterranean mariculture fish species. *J Appl Ichthyol*, **23**(1) p:70-73
 68. Pinto RM, Jofre J, Bosch A (1991) Viral erythrocytic infection in sea bass: virus purification and confirmative diagnosis *Arch Virol*, **120**(1-2) p:83-96
 69. Railo E, Nikinmaa M, Soivio A (1985) Effects of sampling of blood parameters in the rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J Fish Biol*, **26**(6) p:725-732
 70. Rehulka J, Minarik B (2007) Blood parameters in brook trout *Salvelinus fontinalis* (Mitchill, 1815), affected by columnaris disease. *Aquac Res*, **38**(11) p:1182-1197
 71. Roberts RJ, Ellis AE (2001) The anatomy and physiology of teleosts. In: Roberts R, editor. *Fish Pathology*. Philadelphia: WB Saunders., p:12-54
 72. Romano N, Abelli L, Mastrolia L, Scapigliati G (1997) Immunocytochemical detection and cytomorphology of lymphocyte subpopulations in a teleost fish *Dicentrarchus labrax*. *Cell Tissue Res*, **289**(1) p:163-171
 73. Roubal FR (1986) Blood and other possible inflammatory cells in the sparid *Acanthopargus australis* (Gunther). *J Fish Biol*, **28**(5) p:573-593

74. Rowley AF, Hunt TC, Page M, Mainwaring G (1988) Fish. In: Rowley AF, Ratcliffe NA, eds. Vertebrate blood cells. Cambridge University Press, Cambridge, pp 19-127,
75. Sarmento A, Guilhermino L, Afonso A (2004) Mercury chloride effects on the function and cellular integrity of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) head kidney macrophages. Fish Shellfish Immunol, **17**(5) p:489-498
76. Saroglia MG, Scarano G, Tibaldi E (1981) Acute toxicity of Nitrite to Sea Bass. J World Maricul Soc, **12**(2) p:121-126
77. Savage AG (1983) The ultrastructure of the blood cells of the pike *Esox lucius* L. J Morphol, **178**(2) p:187-206
78. Scapigliati G, Mazzini M, Mastrolia L, Romano N, Abelli L (1995) Production and characterization of a monoclonal antibody against the thymocytes of the sea bass *Dicentrarchus labrax* L. (*Teleostea, Percichthyidae*). Fish Shellfish Immunol, **5**(6) p:393-405
79. Scarano G, Saroglia MG (1984) Recovery of fish from functional and haemolytic anaemia after brief exposure to a lethal concentration of nitrite. Aquaculture, **43**(4) p:421-426
80. Skipper R, DeStephano D (1989) Diff-Quik stain set. J Histotechnol, **12**(4) p:303
81. Spazier E, Storch V, Braunbeck T (1992) Cytopathology of spleen in eel *Anguilla anguilla* exposed to a chemical spill in the Rhine river. Diseases of Aquatic Organisms, **14**(2) p:1-22
82. Svobodova Z, Vykusova B (1991) Hematological examination. In: Manual of International Training Course on Fresh-water Fish Diseases and Intoxications: Diagnostics, Prophylaxis and Therapy. Research Institute of Fish Culture and Hydrobiology, <http://www.fao.org/docrep/field/003/ac160e/AC160E00.htm>,
83. Thune RL, Stanley LA, Cooper RK (1993) Pathogenesis of gram-negative bacterial infections in warmwater fish. Annual Review of Fish Diseases, **3**(1) p:37-68
84. Tobback E, Decostere A, Hermans K, Haesebrouck F, Chiers K (2007) *Yersinia ruckeri* infections in salmonid fish. J Fish Dis, **30**(5) p:257-268
85. Tsantilas H, Galatos AD, Athanassopoulou F, Prassinou NN, Kousoulaki K (2006) Efficacy of 2-phenoxyethanol as an anaesthetic for two size classes of white sea

- bream, *Diplodus sargus* L., and sharp snout sea bream, *Diplodus puntazzo* C. Aquaculture, **253**(1-4) p:64-70
86. Tudor M, Kataric I, Marsic-Lucic J (1994) Acute toxicity of ammonia to juvenile sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) at different aeration levels. Aquaculture, **128**(1-2) p:89-95
87. Wedemeyer GA, Barton BA, McLeay DJ (1990) Stress and acclimation. In: Schreck C, Moyle B, editors. Methods in fish biology. Bethesda (MD): American Fisheries Society, p:451-489
88. Weinreb EL (1963) Studies on the fine structure of teleost blood cells. I. Peripheral blood. Anat Rec, **147**(2) p:219-238
89. Wilhelm Filho D, Eble GJ, Kassner G, Caprario FX, Dafre AL, Ohira M (1992) Comparative hematology in marine fish. Comp Biochem Physiol Comp Physiol, **102**(2) p:311-321
90. Zexia G, Wang W, Yang Y, Khalid A, Li D, Zou G, James SD (2006) Morphological studies of peripheral blood cells of the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*. Fish Physiol Bioch, **33**(3) p:213-222
91. Πάσχος Γ (2004) Γενικά στοιχεία Ιχθυοκαλλιέργειών εσωτερικών υδάτων. In: Πάσχος, Γ. Ιχθυοκαλλιέργειες Εσωτερικών Υδάτων, Β' έκδοση, Ιωάννινα, p:3-5

Διαδικτυακές πηγές:

www.fao.org

www.fishbase.com